

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-192673

(P2003-192673A)

(43) 公開日 平成15年7月9日 (2003.7.9)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	マークシート(参考)
C 0 7 D 213/74		C 0 7 D 213/74	4 C 0 3 1
A 6 1 K 31/495		A 6 1 K 31/495	4 C 0 5 5
31/496		31/496	4 C 0 8 6
31/506		31/506	
A 6 1 P 9/10		A 6 1 P 9/10	

審査請求 未請求 請求項の数10 O L 外国語出願 (全 63 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-396479 (P2001-396479)	(71) 出願人	598019107 バイエル アクチエンゲゼルシャフト ドイツ連邦共和国, デー 51368, レーバ ーケーゼン
(22) 出願日	平成13年12月27日 (2001. 12. 27)	(72) 発明者	由良 毅 奈良県奈良市朱雀4-8-1
		(72) 発明者	茂木 宗人 奈良県奈良市大安寺5-10-57-102
		(74) 代理人	110000040 特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ

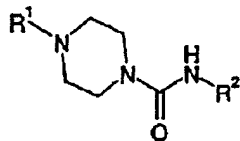
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピペラジンカルボキシアミド誘導体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】本医薬は、パニロイド受容体 (VR1) アンタゴニストとして優れた活性を有し、VR1活性に関する病気の予防および治療、特に切迫性尿失禁、膀胱過活動、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパチー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁および/または炎症性疾患の治療に有用である。

【解決手段】活性成分として、(1) 式に示したピペラジンカルボキシアミド誘導体である、フェニルナフチル尿素誘導体またはその塩、及びそれを含有する医薬を開示する。



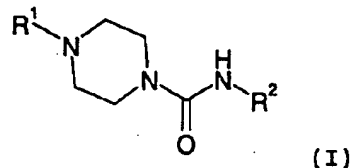
(I)

式中、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は置換されたフェニル、ピリジル、ピリミジル、キノリルおよびナフチルを表わす。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式（I）のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩。

【化1】



式中、

—R¹は、任意にR¹¹、R¹²、およびR¹³で置換されたフェニル、任意にR¹¹、R¹²、およびR¹³で置換されたピリジル、任意にR¹¹、R¹²、およびR¹³で置換されたピリミジル、任意にR¹¹、R¹²、およびR¹³で置換されたキノリル、あるいは任意にR¹¹、R¹²、およびR¹³で置換されたナフチルを表し、

ここで、R¹¹、R¹²、およびR¹³はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシ、ヒドロキシ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルカルバモイル、カルバモイル、カルボキシル、アミノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルアミノ、ジ（直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル）アミノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシカルボニル、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ハロゲン置換フェノキシ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルチオ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルカノイル、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルカノイルアミノ、ヒドロキシ置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシを表し、R²は任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたフェニル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたピリジル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたピリミジル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたキノリル、あるいは任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたナフチルを表し、

ここで、R²¹、R²²、およびR²³はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシ、ヒドロキシ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルカルバモイル、カルバモイル、カルボキシル、アミノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルアミノ、ジ（直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル）アミノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシカルボニル、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ハロゲン置換フェノキシ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキルチオ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルカノイル、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルカノイルアミノ、ヒドロキシ置換直

鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシを表す。

【請求項2】 請求項1に記載のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩。ただし、—R¹は任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたフェニル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたピリジル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたピリミジル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたキノリル、あるいは任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたナフチルを表し、

ここで、R¹¹、R¹²およびR¹³はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシ、あるいはヒドロキシを表し；および、R²は、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたフェニル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたピリジル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたピリミジル、任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたキノリル、あるいは任意にR²¹、R²²、およびR²³で置換されたナフチルを表し、

ただし、R²¹、R²²、およびR²³は、それぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシ、あるいはヒドロキシを表す。

【請求項3】 請求項1または2に記載のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩。ただし、—R¹は、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたフェニル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたピリジル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたピリミジル、任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたキノリル、あるいは任意にR¹¹、R¹²およびR¹³で置換されたナフチルを表し、

ここで、R¹¹およびR¹²はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換された直鎖もしくは分枝アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝C₁-₆アルコキシ、あるいは、ヒドロキシを表し、R¹³は、水素を表す。

【請求項4】 請求項1から3のいずれかに記載のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩。式中R²は、

【化2】



を表す。

【請求項5】 前記式（1）のピペラジンカルボキシアミド誘導体が、下記の物質からなる群から選択される、

請求項1に記載のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはその塩。4-(2-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-[3-(トリフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-(2-フルオロフェニル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-フェニル-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-(3,5-ジクロロ-4-ピリジニル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-4-[3-(トリフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；4-(2-クロロフェニル)-N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；および4-(3,4-ジメチルフェニル)-N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-1-ピペラジンカルボキシアミド。

【請求項6】 疾患の治療および/または予防用の、請求項1から3のいずれかに記載されている式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩。

【請求項7】 一種以上の薬学的に許容可能な担体および/もしくは添加物と、請求項1から5に記載の少なくとも一つの化合物、その互変異性体もしくは立体異性体、およびそれらの塩との組み合わせを含む医薬。

【請求項8】 前記式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、およびそれらの塩がVR1アンタゴニストである、請求項7に記載の医薬。

【請求項9】 切迫性尿失禁、膀胱過活動、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパチー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁および炎症性疾患からなる群より選択される疾患の治療および/もしくは予防に有用である請求項7に記載の医薬。

【請求項10】 切迫性尿失禁、膀胱過活動、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパチー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁および炎症性疾患からなる群から選択される病気の治療および/または予防に有用な医薬の製造の為に、請求項1から5のいずれかに記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は薬学的製剤の有効成分として有用なピペラジンカルボキシアミド誘導体に関

する。本発明のピペラジンカルボキシアミド誘導体は、パニロイド受容体(VR1)拮抗活性を有し、VR1活性が関与する病気の予防と治療、特に切迫性尿失禁、膀胱過活動、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパチー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁および/または炎症性疾患の治療に有用である。

【0002】

【従来の技術】 パニロイド化合物は、バニリル基または機能的に同一の基の存在により特徴づけられる。パニロイド化合物またはパニロイド受容体モジュレーターはいくつかの例は、バニリン(4-ヒドロキシ-3-メトキシベンズアルデヒド)、グアイアコール(2-メトキシフェノール)、ジゲロン(4-/4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル-/2-ブタノン)、オイゲノール(2-メトキシ4-/2-プロベニル/フェノール)、およびカプサイシン(8-メチル-N-バニリル-6-ノネンアミド)である。

【0003】 中でも、唐辛子の主な刺激成分でもあるカプサイシンは、C線維求心性ニューロンを脱感作させる特異的な神経毒である。カプサイシンは、パニロイド受容体(VR1)と相互作用し、前記VR1は、後根神経節(DRG)の細胞体内か、または、C線維神経末端を含む求心性感覚線維の神経末端に主に発現する[Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D: The cloned capsaicin Receptor integrates multiple pain-producing stimuli. Neuron. 21: 531-543, 1998]。VR1は、最近クローン化され[Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D: Nature 389:816-824(1997)]そして構造的にTRP(トランジェント レセプター ポテンシャル)チャンネルファミリーに関連する6個の膜貫通ドメインを有する非選択性カチオンチャンネルであることが同定された。カプサイシンとVR1の結合により、ナトリウム、カルシウム、およびおそらくカリウムイオンは、その濃度勾配の低い方へ流れ、最初に脱分極、そして神経末端からの神経伝達物質の遊離を引き起こす。このため、VR1は、病的状態または疾患時のニューロン性シグナルを誘起する化学的または物理的刺激物質の分子インテグレーターと考えられている。

【0004】 VR1活性と、痛み、虚血症、および炎症等の疾患との関係を示す直接または間接的な証拠が数多く存在する(例えば、WO 99/00115および00/50387)。さらに、VR1は、ダメージを受けたかまたは異常な脊髄反射経路を持つ患者の膀胱過活動に関係する反射シグナルを伝達することが実証されている[De Groat WC: A neurologic basis for the overactive bladder. Urology 50 (6A Suppl): 36-52, 1997]。カプサイシンなどのVR1アゴニストを使用する神

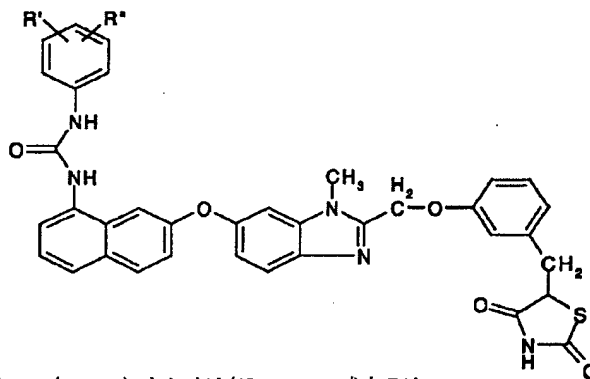
経伝達物質の枯渇による求心性神経の脱感作は、脊髄損傷や多発性硬化症に関係する膀胱機能障害の治療に有意な効果があることが示されている[Maggi CA: Therapeutic potential of capsaicin-like molecules - Studies in animals and humans. Life Sciences 51: 1777-1781, 1992] および [DeRidder D; Chandiramani V; Dasgupta P; VanPoppel H; Baert L; Fowler CJ: Intravesical capsaicin as a treatment for refractory detrusor hyperreflexia: A dual center study with long-term followup. J. Urol. 158: 2087-2092, 1997]。

【0005】VR1受容体の拮抗は、神経伝達物質の遊離を阻害し、VR1活性に関連する症状や病気の予防または治療に結びつくと期待される。

【0006】その為、VR1受容体のアンタゴニストは、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパシー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁、炎症性疾患、切迫性尿失禁(UUI)、および/または膀胱過活動を含む症状および病気の予防と治療に有用であると考えられる。

【0007】WO 2000/50387は、下記の一般式または薬学的に許容可能なその塩で表されるバニロイドアゴニスト活性を有する化合物を開示している。

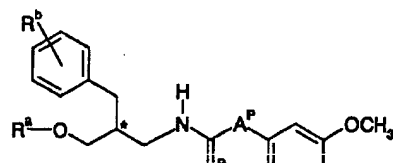
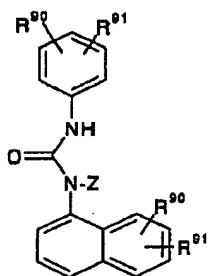
【化3】



式中 (R', R'') は (F, F)、(CF<sub>3</sub>, H) もしくは (iPr, iPr) である。

【0009】WO 2000/75106は、下記の一般式で表される化合物を、MMPが介在する哺乳類の疾病の治療に有用な物質として開示している。

【化5】

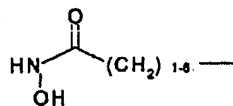


式中; X<sup>P</sup>は酸素または硫黄原子であり、A<sup>P</sup>は-OR<sup>a</sup>-NHC(H)<sub>2</sub>-または-CH<sub>2</sub>-であり、R<sup>a</sup>は置換または無置換C<sub>1-4</sub>アルキル基、またはR<sup>a1</sup>CO-であり、式中、R<sup>a1</sup>は、1から18個の炭素原子を有するアルキル基、2から18個の炭素原子を有するアルケニル基、または6から10個の炭素原子を有する置換もしくは無置換アリール基であり、R<sup>b</sup>は、水素原子、1から6個の炭素原子を有するアルキル基、1から6個の炭素原子を有するアルコキシ基、1から6個の炭素原子を有するハロアルキル基、またはハロゲン原子であり、R<sup>c</sup>は、水素原子、1から4個の炭素原子を有するアルキル基、アミノアルキル基、二酸モノエステルまたはα-アルキル酸、そして星印\*はキラル炭素原子である。

【0008】WO 2000/61581は、下記の一般式で表されるアミン誘導体を、糖尿病、高脂血症、動脈硬化症、または癌に有用な薬剤として開示している。

【化4】

式中Zは、  
【化6】



式中、 $\text{R}^{90}$ は水素、 $\text{C}_{1-12}$ アルキル、 $\text{C}_{3-8}$ シクロアルキル等であり、 $\text{R}^{91}$ はアミノ- $\text{C}_{1-6}$ アルキル、アミノカルボニル- $\text{C}_{1-6}$ アルキル、またはヒドロキシアミノカルボニル- $\text{C}_{1-6}$ アルキルであり；そして $\text{R}^{90}$ と $\text{R}^{91}$ は、H、 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、 $\text{C}_{1-6}$ アルキルチオ、 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ、フルオロ、クロロ、ブロモ、ヨードおよびニトロからなる群から独立して選択される。

【0010】

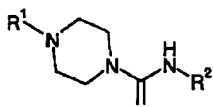
【発明が解決しようとする課題】しかしながら、これらの文献はいずれも薬学的な活性を持つシンプルなピペラジンカルボキシアミド誘導体を開示していない。

【0011】効果的なVR1拮抗活性を有し、VR1活性に関与した病気の予防および治療、特に、切迫性失禁および/または膀胱過活動の治療に使用できる化合物の開発が望まれてきた。

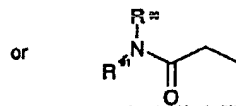
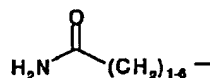
【0012】

【課題を解決するための手段】本発明は、前記式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはその塩を提供する。

【化7】



式中、 $-\text{R}^1$ は、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたフェニル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたピリジル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたピリミジル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたキノリル、あるいは、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたナフチルを表し、ここで、 $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、および $\text{R}^{13}$ はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ、ヒドロキシ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルカルバモイル、カルバモイル、カルボキシル、アミノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルアミノ、ジ（直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル）アミノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシカルボニル、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ハロゲン置換フェノキシ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルチオ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルカノイル、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルカノイルアミノ、ヒドロキシ置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくは



はトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシを表し、 $\text{R}^2$ は、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたフェニル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたピリジル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたピリミジル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたキノリル、あるいは任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたナフチルを表し、ここで、 $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ、ヒドロキシ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルカルバモイル、カルバモイル、カルボキシル、アミノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルアミノ、ジ（直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル）アミノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシカルボニル、フェニル、ベンジル、フェノキシ、ハロゲン置換フェノキシ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキルチオ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルカノイル、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルカノイルアミノ、ヒドロキシ置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシを表す。

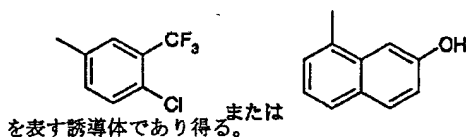
【0013】前記式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体および立体異性体、ならびにそれらの塩は、非常に優れたVR1拮抗活性を示す。それらは、それゆえにVR1活性に関与する病気の予防および治療、特に切迫性尿失禁および/または膀胱過活動の治療に好適である。

【0014】好ましくは、本発明の前記式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体は、式中、 $-\text{R}^1$ は、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたフェニル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたピリジル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたピリミジル、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたキノリル、あるいは、任意に $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、 $\text{R}^{13}$ で置換されたナフチルを表し、ここで、 $\text{R}^{11}$ 、 $\text{R}^{12}$ 、および $\text{R}^{13}$ はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝 $\text{C}_{1-6}$ アルコキシ、あるいは、ヒドロキシを表し；および $\text{R}^2$ は、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたフェニル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたピリジル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換されたピリミジル、任意に $\text{R}^{21}$ 、 $\text{R}^{22}$ 、および $\text{R}^{23}$ で置換され

たキノリル、あるいは任意に $R^{21}$ 、 $R^{22}$ 、および $R^{23}$ で置換されたナフチルを表し、ここで、 $R^{21}$ 、 $R^{22}$ 、および $R^{23}$ はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルコキシ、あるいはヒドロキシを表す。

【0015】他の実施態様では、前記式(I)のピペラジンカルボキシアミド誘導体は、式中、 $-R^1$ は、任意に $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ で置換されたフェニル、任意に $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ で置換されたピリジニル、任意に $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ で置換されたキノリル、あるいは、任意に $R^{11}$ 、 $R^{12}$ 、 $R^{13}$ で置換されたナフチルを表す誘導体であり得、ここで、 $R^{11}$ および $R^{12}$ はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルキル、モノ・ジ・もしくはトリハロゲン置換直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルキル、ニトロ、シアノ、直鎖もしくは分枝 $C_{1-6}$ アルコキシ、あるいは、ヒドロキシを表し、そして $R^{13}$ は水素を表す。さらに他の実施態様では、前記式(I)のピペラジンカルボキシアミド誘導体は、式中、 $R^2$ は

【化8】



【0016】さらに好ましくは、記載の式(1)のピペラジンカルボキシアミド誘導体は、下記の物質からなる群から選択される。4-(2-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-[3-(トリフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-(2-フルオロフェ

ニル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-フェニル-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-(3,5-ジクロロ-4-ピリジニル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-4-[3-(トリフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド；4-(2-クロロフェニル)-N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-1-ピペラジンカルボキシアミド；および4-(3,4-ジメチルフェニル)-N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-1-ピペラジンカルボキシアミド。

【0017】好ましくは、本発明の医薬は、一種以上の薬学的に許容可能な担体および/もしくは添加物をさらに含む。

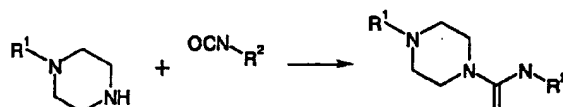
【0018】前記式(I)のピペラジンカルボキシアミド誘導体、その互変異性体もしくは立体異性体、またはそれらの塩は、切迫性尿失禁、膀胱過活動、慢性痛、神経障害痛、術後疼痛、慢性関節リウマチ痛、神経痛、ニューロパチー、痛覚過敏、神経損傷、虚血症、神経変性、脳卒中、失禁および/または炎症性疾患の治療に有用である。これらは、VR1活性に関係する病気の為であるためである。

【0019】

【発明の実施の形態】本発明の前記式(I)の化合物は、下記の【A】もしくは【B】の方法で製造することができるが、これらの方法に限定されるものではない。いくつかの実施形態では、出発原料または中間体として使用される化合物におけるアミノ基、カルボキシル基およびヒドロキシル基等の一以上の置換基は、当業者に公知の保護基で保護することが有利である。前記保護基の例は、Greene and Wutsの“Protective Groups in Organic Synthesis (2nd Edition)”に記載されている。

【0020】【方法A】

【化9】

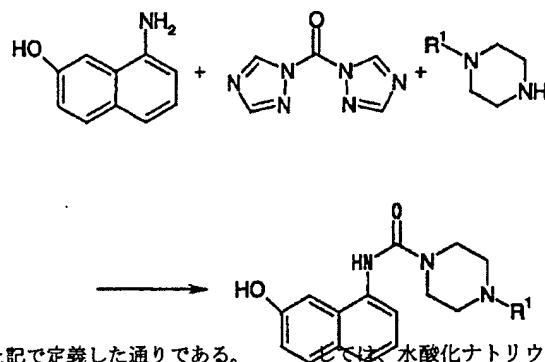


【0021】前記化合物において、 $R^1$ および $R^2$ は上記で定義した通りである。これらの化合物は置換基を有するピペラジンおよびイソシアネートとの反応により調製することができる。この反応は、例えば、メチレンクロライドおよびクロホルム等のハロゲン化炭化水素；ジオキサンおよびテトラヒドロフラン等のエーテル；ベンゼン、トルエンおよびキシレン等の芳香族炭化水素；アセトニトリル等のニトリル；ジメチルホルムアミド(DMF)およびジメチルアセトアミド等のアミド；ジメチルスルホキシド等のスルホキシドや、その他の溶媒中で行

うことができる。反応は、トリエチルアミンなどの有機塩基の存在下において行い得る。反応温度は、反応させる化合物次第で任意に設定される。前記反応温度は限定されないが、通常室温から約100℃である。前記反応は、通常30分から48時間行われ、好ましくは1時間から24時間行われる。置換基を有するピペラジンおよびイソシアネートは、市販ルートで入手するか、または公知技術の使用により調製することができる。

【0022】【方法B】

【化10】



前記化合物において、 $R^1$ は上記で定義した通りである。これらの化合物は(1)ナフチルアミンおよび1、1'-カルボニルジ(1、2、4-トリアゾール)(CDT)との反応および(2)反応混合物に置換基を有するアリルピペラジンを加えることにより調製することができる。前記反応(1)は例えば、ジオキサンおよびテトラヒドラフラン等のエーテル；ベンゼン、トルエンおよびキシレン等の芳香族炭化水素；アセトニトリ等のニトリル；ジメチルホルムアミド(DMF)およびジメチルアセトアミド等のアミド；ジメチルスルホキシド等のスルホキシドや、その他の溶媒中で行うことができる。反応温度は、反応させる化合物次第で任意に設定される。前記反応温度は限定されないが、通常約20℃から50℃である。前記反応は、通常30分から10時間行われ、好ましくは1時間から24時間行われる。

【0023】前記式(I)で示した化合物またはその塩が、互変異性体または立体異性体(例：幾何異性体および配座異性体)を有するときは、それらの分離した各異性体および混合物もまた本発明の範囲に含まれる。

【0024】式(I)の化合物またはその塩が、その構造に不斉炭素を有するときは、それらの光学活性体およびラセミ混合物もまた本発明の範囲に含まれる。

【0025】式(I)で示される化合物の代表的な塩には、本発明の化合物と鉱酸もしくは有機酸、または有機塩基もしくは無機塩基との反応によって製造される塩を含む。そのような塩は酸付加塩および塩基付加塩として、それぞれ知られている。

【0026】酸付加塩を形成する酸は、特に限定されないが、硫酸、磷酸、塩酸、臭化水素酸およびヨウ化水素酸等の無機酸、ならびに、特に限定されないが、p-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、酢酸、p-プロモベンゼンスルホン酸、炭酸、コハク酸、クエン酸、安息香酸、酢酸等の有機酸を含む。

【0027】塩基付加塩は、特に限定されないが、水酸化アンモニウム、アルカリ金属水酸化物、アルカリ土類金属水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩等の無機塩基、ならびに、特に限定されないが、エタノールアミン、トリエチルアミン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン等の有機塩基から誘導される塩を含む。無機塩基の例と

しては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、水酸化カルシウム、炭酸カルシウム等を含む。

【0028】本発明の化合物またその塩は、その置換基次第で、低級アルキルエステルまたは公知の他のエステル、および/または水和物もしくは別の溶媒和物を形成するように修飾しても良い。それらのエステル、水和物、および溶媒和物は本発明の範囲に含まれる。

【0029】本発明の化合物は、特に限定されないが、通常のおよび腸溶性錠剤、カプセル、ビル、散剤、顆粒剤、エリキシル剤、チンキ剤、溶剤、懸濁剤、シロップ、固体もしくは液体エアロゾル、および乳濁液等の経口剤の形で投与して良い。また、本発明の化合物は、特に限定されないが、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、筋肉内投与のような薬学の分野の当業者によく知られている形態等により非経口投与しても良い。本発明の化合物は、当業者によく知られている適切な経鼻用ビヒクルの局所的使用を介した鼻腔内投与形態または経皮配送システムを用いた経皮ルートを経た投与形態で投与されうる。

【0030】本発明の化合物の使用に関する投与計画は、特に限定されないが、年齢、体重、性別、患者の医学的状態、病状、投与経路、患者の代謝・排泄機能のレベル、使用される剤形、投与される特定の化合物およびその塩を含む、種々の要素を考慮して、当業者によって選定される。

【0031】本発明の化合物は、投与に先立ち、1種以上の薬学的に許容可能な添加物と共に製剤されるのが好ましい。その添加物は、特に限定されないが、担体、希釈剤、香料、甘味料、滑沢剤、溶解剤、懸濁剤、結合剤、錠剤崩壊剤、およびカプセル化材のような不活性物質である。

【0032】本発明のさらに他の実施形態は、本発明の化合物と、1種以上の薬学的に許容される添加物であって、製剤の他の成分と共存でき、患者に有害でない添加物とからなる薬学的製剤である。本発明の薬学的製剤は、本発明の化合物の治療的有効量と1種以上の薬学的に許容される添加物を混ぜて調製される。本発明の調合

物を作製するには、活性物質を希釈剤と混合しても担体に封入しても良く、その担体は、カプセル、小袋、紙または他の容器の形で良い。前記担体は希釈剤を兼ねてもよく、固体、半固体、ビヒクルとして作用する液体でもよく、または、例えば活性化化合物を重量で10%まで含有する錠剤、ビル、散剤、ローゼンジ、エリキシル、懸濁液、乳濁液、溶液、シロップ、エアロゾル、軟膏、軟・硬ゼラチンカプセル、坐薬、滅菌注射液および包装滅菌散剤の形になりうる。

【0033】経口投与のために、活性成分は、経口用で非毒性の薬学的に許容される担体（特に限定されないが、ラクトース、デンプン、スクロース、グルコース、炭酸ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、メチルセルロース等）と、そして必要に応じ、崩壊剤（特に限定されないが、トウモロコシ粉、デンプン、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンガム、アルギン酸等）と、そして必要に応じ、結合剤（特に限定されないが、ゼラチン、天然糖、ベータラクトース、トウモロコシ甘味料、天然および合成ゴム、アラビアゴム、トラガカントゴム、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、ワックス等）と、そして必要に応じ、滑沢剤（特に限定されないが、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸、オレイン酸ナトリウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、食塩、タルク等）と共に混合してもよい。

【0034】散剤では、担体は細かく砕いた固体でもよく、それが細かく砕いた活性成分と混合される。活性成分は、結合力を有する担体と適当な割合で混合し、所望の形と大きさに圧縮し、錠剤にしてもよい。前記散剤および錠剤は、好ましくは、本発明の新規組成物である活性成分を約1〜約99重量%含んでいる。適切な固体担体は、カルボキシメチルセルロースマグネシウム、低融点ワックスおよびカカオ脂である。

【0035】滅菌溶液製剤は、懸濁液、乳濁液、シロップ、およびエリキシル剤を含む。活性成分は、薬学的に許容される担体、例えば滅菌水、滅菌有機溶媒またはそれらの混合物に溶解または懸濁することができる。

【0036】活性成分はまた、適切な有機溶媒、例えばプロピレングリコール水溶液に溶かすこともできる。他の調合物は、細かく砕いた活性成分をデンプン水溶液、CMC（カルボキシメチルセルロース）ナトリウム水溶液または適切なオイルに分散させて作製できる。

【0037】製剤は単位用量形態、すなわちヒトまたは他の哺乳類への投与に適した単位用量を含む物理的に分割した単位でも良い。単位用量形態は1個のカプセルもしくは錠剤、または多数のカプセルもしくは錠剤で良い。「単位用量」とは、所望の治療効果を生み出すために計算された、1種以上の添加物と混合された本発明の

活性化化合物の予め決められた量である。単位用量中の活性成分の量は、関係する特定の処置に応じて、約0.1から約1000mgまたはそれ以上に変化または調整することができる。

【0038】本発明の典型的経口投与量は、指示された効果のために使用するとき、約0.01mg/kg/日から約100mg/kg/日、好ましくは0.1mg/kg/日から30mg/kg/日、そして最も好ましくは約0.5mg/kg/日から約10mg/kg/日である。非経口投与の場合、約0.001mg/kg/日から約100mg/kg/日、好ましくは0.01mg/kg/日から1mg/kg/日の量を投与することが一般的に有利であることが証明されている。本発明の化合物は、一日一回のみ投与しても良く、または、1日の全用量を、1日2回、3回またはそれ以上に分割して投与しても良い。勿論、経皮形態を経由するときは、投与は継続的である。

【0039】

【実施例】本発明を以下に実施例の形態で記述するが、これらは本発明の境界および範囲を何ら限定するように解釈されるべきではない。以下の実施例において、全ての量に関する値は、他に述べない限り、重量%である。マススペクトルは、電子スプレー（ES）イオン化法（micromass Platform LC）を使用して得た。融点は未補正值である。液体クロマトグラフィーマススペクトル（Liquid Chromatography - Mass spectroscopy, LC-MS）データは、Shimadzu Phenomenex ODS カラム（4.6 mm X 30 mm）を装備した Micromass PlatformLC を使い、アセトニトリルと水の混合溶媒（9：1から1：9）を1 ml/min の流速で流して記録した。TLCは、プレートされたシリカゲルプレート（Merck silica gel 60F-254）を用いて行った。全てのカラムクロマトグラフィー分離には、シリカゲル（WAKO-gel C-200（75-150 μm））を用いた。全ての化学物質は、試薬級であり、Sigma - Aldrich、和光純薬化学工業株式会社、東京化成工業株式会社、Arch corporation から購入した。

【0040】本発明の化合物の効果は、以下のアッセイおよび薬理学テストで試験した。

【0041】[VR1 形質移入CHO細胞系中のカプサイシン誘導Ca<sup>2+</sup>流入の測定]（アッセイ1）

(1) ヒトVR1-CHO luc9aeq細胞系の確立  
ヒトパニロイド受容体（hVR1）cDNAは、軸索切断した後根神経節のライブラリーでクローン化した（WO2000/29577）。前記クローン化したhVR1 cDNAは、pcDNA3ベクターと共に構築され、CHO luc9aeq細胞系に形質移入させた。前記細胞系はエクオリンおよびCRE-ルシフェラーゼレポーター遺伝子を発現シグナルとして有する。前記形質移入細胞は、10% FCS、1.4mM ビルビン酸ナトリウム、20mM HEPES、0.15% 炭酸



水素ナトリウム、100 U/ml ペニシリン、100  $\mu$ g/ml ストレプトマイシン、2 mM グルタミン、非必須アミノ酸および2 mg/ml G418を含む選択培地(DMEM/F12 medium, Gibco BRL)中で、限定希釈法によりクローニングした。 $Ca^{2+}$ 流入は、カプサイシン刺激されたクローンについて試験した。高応答クローンは、このプロジェクトにおける更なる実験のために選択し、使用した。前記ヒトVR1-CHO luc9aeq細胞は、前記選択培地中で保持し、 $1 \sim 2.5 \times 10^5$ 細胞/フラスコ(75 mm<sup>2</sup>)で3~4日に一度継代した。

#### 【0042】(2) FDSS-3000を使用した $Ca^{2+}$ 流入の測定

ヒトVR1-CHO luc9aeq細胞を、前記選択培地からG418を除いた培地中で懸濁させ、ウェル当たり1,000細胞の密度で384-ウェルプレート(black walled clear-base/Nalge Nunc International)中に接種した。48時間培養後、前記培地を、2  $\mu$ M Fluo-3 AM(Molecular Probes)および0.02% Puronic F-127を含むアッセイ用緩衝液(Hank's 平衡塩類溶液(HBSS)、17 mM HEPES (pH 7.4)、1 mM プロベネシッド、0.1% BSA)と交換し、前記細胞を、25℃で60分間インキュベートした。アッセイ用緩衝液で2回洗浄した後、前記細胞を試験化合物または媒体で、25℃において20分間インキュベートした。細胞質中の $Ca^{2+}$ の移動は、FDSS-3000( $\lambda_{ex}=488$  nm,  $\lambda_{em}=540$  nm/Hamamatsu Photonics)を用いて、10 nM カプサイシンによる刺激後60秒で測定した。積分比を計算し、対照と比較した。

#### 【0043】[ラット後根神経節の初代培養神経細胞を使ったカプサイシンによる $Ca^{2+}$ 流入誘導の測定](アッセイ2)

(1) ラット後根神経節神経細胞の調製  
ウィスター系ラットの新生児(生後5~11日)を殺し、後根神経節(DRG)を摘出した。DRGは、PBS(-)(Gibco BRL)中0.1% トリプシン(Gibco BRL)を用いて37℃で30分間インキュベートし、次に、半量のウシ胎児血清(FCS)を加え、そして、細胞を遠心分離により沈殿させた。前記DRG神経細胞は、Ham F12/5% FCS/5% ウマ血清(Gibco BRL)で再懸濁させ、ピペティングの繰り返しおよび70  $\mu$ m メッシュ(Falcon)の通過により分散させた。培養プレートは、混入Schwann細胞を除去するために37℃で3時間インキュベートした。非附着細胞は、回収し、ラミニンでコートした384ウェルプレート(Nunc)中、50 ng/ml 組換えラットNGF(Sigma)および50  $\mu$ M 5-フルオロデオキシウリジン(Sigma)の存在下、 $1 \times 10^4$ 細胞/50  $\mu$ l/ウェルで2日間さらに培養した。

#### (2) $Ca^{2+}$ 移動アッセイ

DRG神経細胞は、17 mM HEPES (pH 7.4)および0.1% BSAを含むHBSSで2回洗浄した。2  $\mu$ M Fluo-3(Molecular Probe)、0.02% PF127(Gibco BRL)および1 mM プロベネシッド(Sigma)を用いて37℃で40分間インキュベートした後、細胞を3回洗浄した。前記細胞は、VR1アンタゴニストまたは溶媒(ジメチルスルホキシド)と、続いて1  $\mu$ MのカプサイシンでFDSS-6000中( $\lambda_{ex}=480$  nm,  $\lambda_{em}=520$  nm/Hamamatsu Photonics)インキュベートした。480 nmでの蛍光の変化は、2.5分間追跡した。積分比を計算し、対照と比較した。

#### 【0044】[カプサイシン誘導膀胱収縮を測定するためのマグヌスアッセイ](アッセイ3)

オスのウィスター系ラット(生後10週)をエーテルで麻酔し、頸椎骨折により殺した。膀胱の全体を切除し、酸素を通したModified Krebs-Henseleit溶液(pH 7.4)に浸した。前記溶液は、112 mM NaCl、5.9 mM KCl、1.2 mM  $MgCl_2$ 、1.2 mM  $NaH_2PO_4$ 、2 mM  $CaCl_2$ 、2.5 mM  $NaHCO_3$ 、12 mM グルコースの組成を有する。前記膀胱の収縮反応は、すでに記述されているようにして研究した[Maggi CA et al: BR. J. Pharmacol. 108: 801-805, 1993]。等尺性張力は、ラット排尿筋の縦方向細片を使用して1 gの負荷で記録した。膀胱細片は、各刺激に先立って60分間平衡化させた。80 mM KClに対する収縮反応は、反復可能な応答が得られるまで、15分間隔で測定した。前記KClに対する応答は、カプサイシンに対する最大応答値を評価するための内部標準として使用した。前記化合物の効果は、前記小片を、1  $\mu$ M カプサイシンによる刺激(媒体: 80% 生理食塩水、10% エタノール、および10% Tween 80)に先立って、化合物で30分間インキュベートすることにより調べた。同一の動物から作製された試料のうちの一つを対照として供し、その他を評価しようとする化合物のために使用した。内部標準(すなわちKCl誘導収縮)に対する各々のカプサイシン誘導収縮を計算し、カプサイシン誘導収縮に対する試験化合物の効果の評価した。

#### 【0045】[ヒトP2X1形質移入CHO細胞系への $Ca^{2+}$ 流入の測定]

##### (1) ヒトP2X1形質移入CHO luc9aeq細胞系の調製

ヒトP2X1形質移入CHO luc9aeq細胞系を確立し、7.5% FCS、20 mM HEPES-KOH (pH 7.4)、1.4 mM ビルビン酸ナトリウム、100 U/ml ペニシリン、100  $\mu$ g/ml ストレプトマイシン、2 mM グルタミン(Gibco BRL)および0.5 ユニット/ml アピラーゼ(一級, Sigma)

a)を含むダルベッコの修飾型イーグル培地 (DMEM/F12) 中で保持した。懸濁させた細胞を、384-well optical bottom black plates (Nalge Nunc International) の各ウェルに、 $3 \times 10^3 / 50 \mu\text{l}$  /ウェルで接種した。前記細胞は、続いて48時間培養し、前記プレートに接着させた。

#### (2) 細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ レベルの測定

P2X1 受容体アゴニストが媒介する細胞質中の $\text{Ca}^{2+}$ レベルの上昇は、蛍光性 $\text{Ca}^{2+}$ キレート色素Fluo-3 AM (Molecular Probes) を用いて測定した。プレートに接着した細胞は、洗浄用緩衝液 (HBSS、17 mM HEPES-KOH (pH 7.4)、0.1% BSAおよび0.5 ユニット/ml アピラーゼ) で2回洗浄し、 $40 \mu\text{l}$  の添加液 (洗浄用緩衝液中 $1 \mu\text{M}$  Fluo-3 AM、 $1 \text{mM}$  プロベネシッド、 $1 \mu\text{M}$  シクロスポリリン A、0.01% pluronic (Molecular Probes)) 中、暗所で1時間インキュベートした。前記プレートは、 $40 \mu\text{l}$  の洗浄用緩衝液で2回洗浄し、 $35 \mu\text{l}$  の洗浄用緩衝液を、各ウェルに、 $5 \mu\text{l}$  の試験用化合物または対照用としての2'、3'- $\text{o}$ - (2、4、6-トリニトロフェニル) アデノシン5'- $\text{r}$ -三リン酸 (Molecular Probes) と共に加えた。さらに暗所で10分間インキュベートした後、 $200 \text{nM}$   $\alpha$ 、 $\beta$ -メチレンATPアゴニストを添加して、 $\text{Ca}^{2+}$ 移動を開始させた。蛍光強度は、FDSS-6000 ( $\lambda_{\text{ex}} = 410 \text{nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}} = 510 \text{nm}$  / Hamamatsu Photonics) により、 $250 \text{ms}$  間隔で測定した。そのデータから積分比を計算し、対照と比較した。

【0046】 [麻酔下でのラットを使ったカブサイシンにより誘導される膀胱収縮の測定] (アッセイ4)

#### (1) 動物

雌のSprague-Dawleyラット ( $200 \sim 250 \text{g}$  / Charles River Japan) を使用した。

#### (2) カテーテル植え込み

ラットを、ウレタン (Sigma) の $1.2 \text{g/kg}$  腹腔内投与により麻酔した。正中線切開により開腹し、ポリエチレンカテーテル (BECTON DICKINSON、PE50) を、膀胱に、その頂部を通じて植え込んだ。一方、鼠径部を切り込み、生理食塩水 (Otsuka) 中 $2 \text{IU/ml}$  のヘパリン (ノボ・ヘパリン、Aventis Pharma) で満たしたポリウレタンカテーテル (Hibiki、サイズ5) を、総腸骨動脈中に挿入した。

#### (3) シストメトリー調査

前記膀胱カテーテルは、T-チューブを通じて圧力変換器 (Viggo-Spectramed Pte Ltd、DT-XXAD) およびマイクロインジェクションポンプ (TERUMO) と接続した。生理食塩水を、膀胱に、室温下、 $2.4 \text{ml/h}$  R の速度で注入した。膀胱内圧力は、チャートペンレコーダー (Yokogawa) で連続的に記録した。20分間に相当する、少なくとも三回の反復可能な排尿サイクルを、試験化合物投与

前に記録し、それをベースライン値として用いた。

#### (4) 試験化合物の投与と、カブサイシンによる膀胱刺激

化合物投与前に、生理食塩水の注入を停止した。エタノール、Tween 80 (ICN Biomedicals Inc.) および生理食塩水 ( $1:1:8$ , v/v/v) の混合物に溶解した試験化合物を、 $10 \text{mg/kg}$  で動脈内投与した。前記化合物の投与から2分後に、エタノールに溶解した $10 \mu\text{g}$  のカブサイシン (Nacalai Tesque) を動脈内投与した。

#### (5) シストメトリーパラメータの解析

カブサイシン誘導による膀胱内圧力上昇は、シストメトリーデータから解析した。カブサイシン誘導による膀胱圧力は、カブサイシン刺激が無いときの排尿中最大膀胱圧力と比較した。試験化合物媒介による膀胱圧力上昇の阻害は、Studentのt-テストを用いて評価した。5% よりも小さい確率レベルは、有意差とみなした。

【0047】 ヒトVR1形質移入CHO細胞系におけるカブサイシン誘導 $\text{Ca}^{2+}$ 流入の $\text{IC}_{50}$ 値の結果を、以下の実施例および実施例の表に示す。データは、固相合成法により得られ、したがって純度レベルが約40から90%である化合物に対応する。実用上の理由から、前記化合物は、以下の4クラスの活性に分類した。

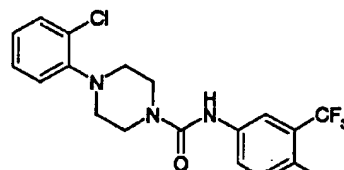
$\text{IC}_{50} = \text{A} \leq 0.1 \mu\text{M} < \text{B} \leq 0.5 \mu\text{M} < \text{C} \leq 1 \mu\text{M} < \text{D}$

【0048】 本発明の化合物はまた、優れた選択性を示し、上記の他のアッセイ (2) ~ (4) でも強い活性を示す。

#### 【0049】 実施例1-1

4-(2-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド

#### 【化11】



【0050】 本実施例は前記一般的方法Aに従って行った。4-クロロ-3-トリフルオロメチルフェニルイソシアネート ( $80.0 \text{mg}$ 、 $0.36 \text{mmol}$ ) の $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $1.5 \text{ml}$ ) 溶液を攪拌しながら、この溶液に1-(2-クロロフェニル)ピペラジン ( $79.0 \text{mg}$ 、 $0.40 \text{mmol}$ ) の $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $1.5 \text{ml}$ ) 溶液を室温で加えた。その反応混合物を同じ温度で2時間攪拌した。溶媒は減圧下で除去し、そしてその残渣をジエチルエーテルで洗浄し、4-(2-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド ( $112.0 \text{mg}$ 、収率67

%)を得た。

融点：175-176℃

分子量：418.25

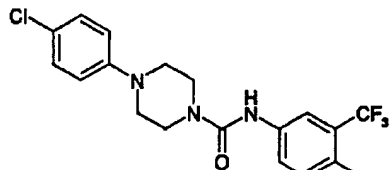
MS (M+H) : 418

活性度：A

【0051】実施例1-2

4-(4-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド

【化12】



【0052】本実施例は一般的方法Aに従って行った。

4-クロロフェニルピペラジンヒドロクロライド (9

4.0mg, 0.40mmol) およびトリエチルアミン

(0.062ml, 0.44mmol) のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.0m

l) 溶液を攪拌しながら、この溶液に4-クロロ-3-トリフルオロメチルフェニルイソシアネート (80.0mg, 0.36mmol) を室温で加えた。その反応混合物を同じ温度で2時間攪拌した。飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液を加え、そして反応混合物をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>で抽出した。有機層をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、そして次に減圧下で濃縮した。その残渣をジエチルエーテルで洗浄し、4-(4-クロロフェニル)-N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド (130.0mg, 収率78%) を得た。

融点：119℃

分子量：418.24

MS (M+H) : 418

活性度：B

【0053】上記実施例1-1もしくは1-2のうちいずれかと同様の方法に従って、下記の化合物を合成し試験した。

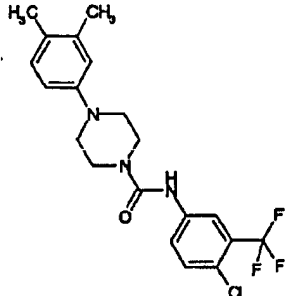
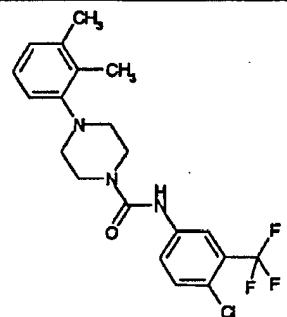
【0054】表1 (化13~化24)

【化13】

実施例番号	分子構造	分子量	M+1	融点	hVR1クラス
1-3		401.79432		115	B
1-4		496.7998		188	B

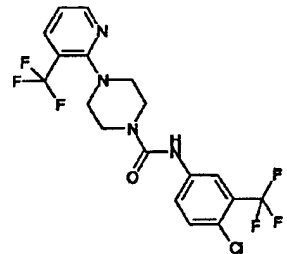
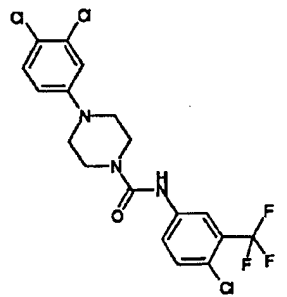
【0055】

【化14】

1-5		411.85807		140-142	B
1-6		411.85807		162-163	B

【0056】

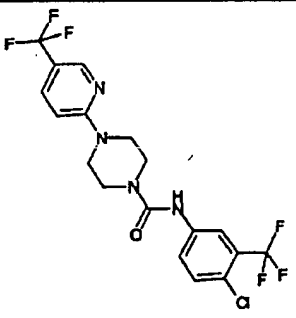
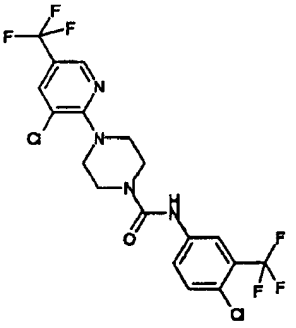
【化15】

1-7		452.78985		163-165	A
1-8		452.66395		168-169	B

【0057】

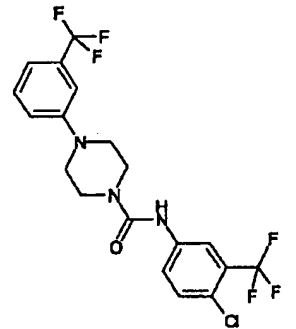
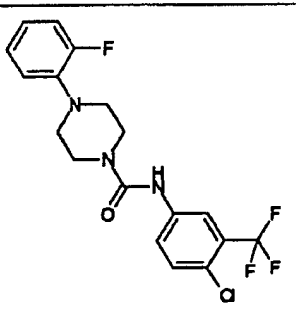
【化16】

【0058】

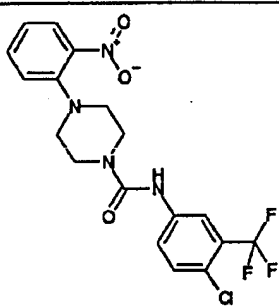
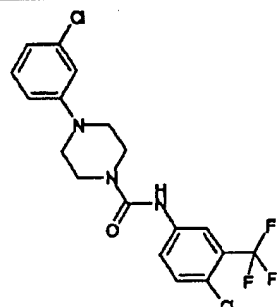
1-9		452.78985		153-155	C
1-10		487.23488		123-125	B

【化17】

【0059】

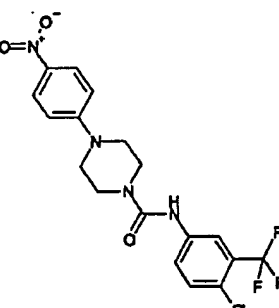
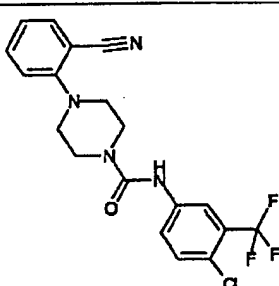
1-11		451.80227		117-119	B
1-12		401.79432		128-130	A

【化18】

1-13		428.80142	178-180	B
1-14		418.24892	133-135	B

[0060]

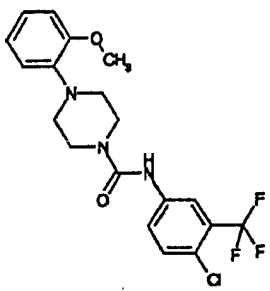
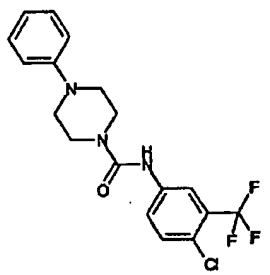
[419]

1-15		428.80142	208-210	C
1-16		408.81377	164-166	B

[0061]

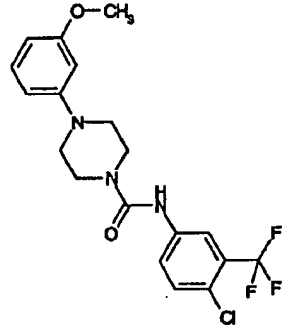
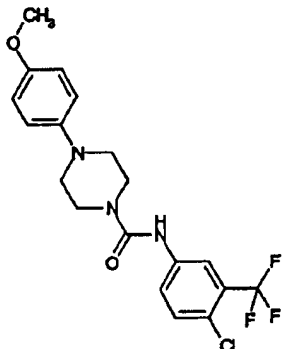
[420]

【0062】

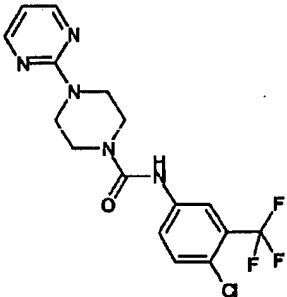
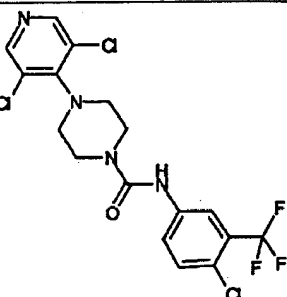
1-17		413.83038	178-181	B
1-18		383.80389	136-137	A

【化2-1】

【0063】

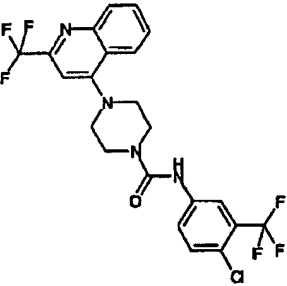
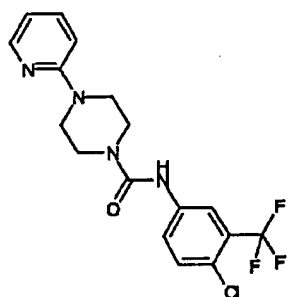
1-19		413.83038	108-108	B
1-20		413.83098	154-155	C

【化2-2】

1-21		385.77905	157-159	C
1-22		453.68163	253-255	A

【0064】

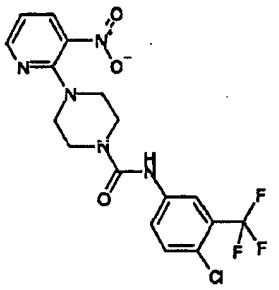
【化23】

1-23		502.85039	210-212	B
1-24		384.78147	139-141	B

【0065】

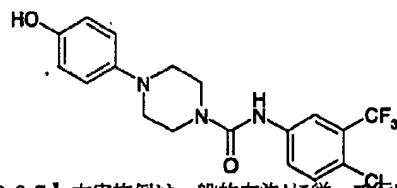
【化24】



1-25		429.789	169-170	B
------	---	---------	---------	---

【0066】実施例2-1 2.4mmol)のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液に三臭化ホウ素(1.0MのCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中溶液; 0.72ml, 0.7mmol)を0℃で加えた。その混合物を室温で5時間攪拌した。その反応混合物を飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液で中和し、そして次にCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>で抽出した。その残渣を分取薄層シリカゲルクロマトグラフィー(CHCl<sub>3</sub>:MeOH=10:1)で精製し、目的化合物

【化25】



【0067】本実施例は一般的方法Aに従って行い、さらにピペラジンの置換基として存在するフェニル部位を修飾して行った。N-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-4-(4-メトキシフェニル)-1-ピペラジincarboxamide (100.0mg, 0.

(29mg, 30%)を得た。

融点: 231-233℃

分子量: 399.80

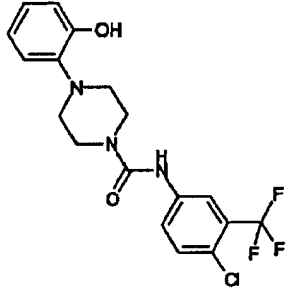
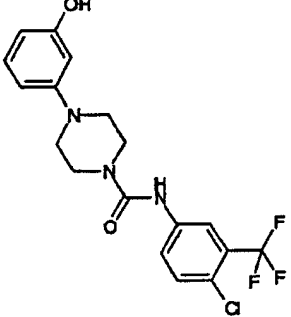
MS (M+H): 400

活性度: C

実施例2-1の方法に従って、下記化合物を合成し、試験した。

【0068】表2 (化26)

【化26】

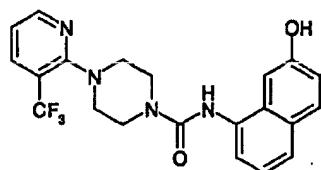
実施例番号	分子構造	分子量	M+1	融点	hVR1クラス
2-2		399.8033		191-192	B
2-3		399.8033		182-184	C

【0069】実施例3

N-(7-ヒドロキシー-1-ナフチル)-4-[3-(ト

リフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド

【化27】



【0070】本実施例は一般的方法Bに従って行った。  
8-アミノ-2-ナフトール (69.0 mg、0.43 mmol) のTHF (2 ml) 溶液に、1, 1'-カルボニルジ (1, 2, 4-トリアゾール) (71.0 mg、0.43 mmol) を加え、そしてその混合物を室温で2時間撹拌した。1-[3-トリフルオロメチル]ピリジ-2-イル]ピペラジン (100.0 mg、0.43 mmol) を加

え、その混合物を50℃で3時間撹拌した。水を加え、そしてその混合物をAcOEtで抽出した。有機層をMgSO<sub>4</sub>で乾燥し、そして次に減圧下で濃縮した。その残渣をジエチルエーテルで洗浄し、N-(7-ヒドロキシ-1-ナフチル)-4-[3-(トリフルオロメチル)-2-ピリジニル]-1-ピペラジンカルボキシアミド (125.0 mg、69%) を得た。

融点: 202-204℃

分子量: 416.41

MS (M+H): 417

活性度: B

実施例3-1に従って、下記化合物を合成し、試験した。

【0071】表3 (化28)

【化28】

実施例 番号	分子構造	分子量	M+1	融点	hVRI クラス
3-2		392.418		210	B
3-3		381.8655		233	A
3-4		375.4746		280	A

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 13/02  
13/10  
19/02  
25/00  
25/04

A 6 1 P 13/02  
13/10  
19/02  
25/00  
25/04

25/28  
29/00  
1 0 1  
43/00 1 1 1  
C O 7 D 215/42  
239/42  
295/20

- (72)発明者 池上 由香  
京都府京都市伏見区西奉行町伏見合同宿舍  
942  
(72)発明者 榊田 努  
奈良県奈良市神功3-15-6-6A  
(72)発明者 小久保 利雄  
奈良県奈良市神功3-15-18B  
(72)発明者 ウアバーンズ クラウス  
兵庫県神戸市灘区楠丘町6-3-1-301  
(72)発明者 吉田 長弘  
京都府相楽郡木津町相楽台5-18-15  
(72)発明者 丸茂 真紀子  
奈良県奈良市西大寺南町4-9-307  
(72)発明者 城尾 昌宏  
奈良県生駒市鹿ノ台南1-3-17

25/28  
29/00  
1 0 1  
43/00 1 1 1  
C O 7 D 215/42  
239/42 Z  
295/20 A

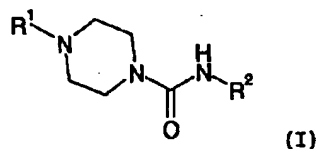
- (72)発明者 多治見 政臣  
京都府相楽郡精華町桜が丘1-8-17  
(72)発明者 竹下 慶亮  
京都府京都市下京区七条通大宮東入大工町  
118-405  
(72)発明者 森脇 俊哉  
奈良県生駒市北大和2-25-4  
(72)発明者 月見 泰博  
兵庫県尼崎市久々知2-10-1  
Fターム(参考) 4C031 LA03  
4C055 AA01 BA02 BA03 BA52 BB02  
CA01 CA02 CA03 CA06 CA13  
CA39 DA01 DA52 DB02  
4C086 AA01 AA02 AA03 BC50 MA01  
MA02 MA03 MA04 MA05 NA14  
ZA01 ZA08 ZA15 ZA20 ZA36  
ZA81 ZB11 ZB15 ZC42

1. TITLE OF INVENTION

PIPERAZINECARBOXAMIDE DERIVATIVES

2. Claims

(1) A piperazinecarboxamide derivative of the formula (I), its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof:



wherein

-R¹ represents phenyl optionally substituted by R¹¹, R¹² and R¹³, pyridyl optionally substituted by R¹¹, R¹² and R¹³, pyrimidyl optionally substituted by R¹¹, R¹² and R¹³, quinolyl optionally substituted by R¹¹, R¹² and R¹³, or naphthyl optionally substituted by R¹¹, R¹² and R¹³,

in which R¹¹, R¹² and R¹³ independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy, hydroxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylcarbamoyl, carbamoyl, carboxyl, amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylamino, di(straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl)amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxycarbonyl, phenyl, benzyl, phenoxy, halogen substituted phenoxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylthio, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoyl, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoylamino, hydroxy substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub>

alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy,

R<sup>2</sup> represents phenyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, pyridyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, pyrimidyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, quinolyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, or naphthyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>,

in which R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup> independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy, hydroxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylcarbamoyl, carbamoyl, carboxyl, amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylamino, di(straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl)amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy carbonyl, phenyl, benzyl, phenoxy, halogen substituted phenoxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylthio, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoyl, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoylamino, hydroxy substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy.

(2) A piperazinecarboxamide derivative, its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof as claimed in claim 1,

wherein -R<sup>1</sup> represents phenyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, pyridyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, pyrimidyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, quinolyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, or naphthyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>,

in which  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy; and  $R^1$  represents phenyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , pyridyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , pyrimidyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , quinolyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , or naphthyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ ,

in which  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy.

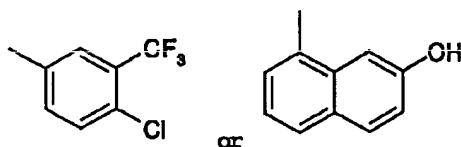
(3) A piperazinecarboxamide derivative, its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof as claimed in claim 1 or 2, wherein  $-R^1$  represents phenyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyridyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyrimidyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , quinolyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , or naphthyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ ,

in which  $R^{11}$  and  $R^{12}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy and  $R^{13}$  represents hydrogen.

(4) A piperazinecarboxamide derivative, its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof as claimed in any one of claims 1

to 3,

wherein R<sup>2</sup> represents



(5) A piperazinecarboxamide derivative of the formula (I), its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof as claimed in claim 1, wherein said piperazinecarboxamide derivative of the formula (I) is selected from the group consisting of:

4-(2-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine carboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(2-fluorophenyl)-1-piperazine carboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-phenyl-1-piperazinecarboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(3,5-dichloro-4-pyridinyl)-1-piperazinecarboxamide;

N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide;

4-(2-chlorophenyl)-N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-1-piperazinecarboxamide;

and

4-(3,4-dimethylphenyl)-N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-1-piperazinecarboxamide

e.

(6) A piperazinecarboxamide derivative of the formula (I), its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof as claimed in any one of claims 1 to 3 for the treatment and/or prophylaxis of diseases.

(7) A medicament comprising at least one of the compounds, their tautomeric and stereoisomeric form, and salts thereof as claimed in claim 1 to 5 in combination with at least one pharmaceutically acceptable carrier and/or excipients.

(8) The medicament as claimed in claim 7, wherein said piperazinecarboxamide derivative of the formula (I), its tautomeric or stereoisomeric form, or a salt thereof is a VRI antagonist.

(9) The medicament as claimed in claim 7 for the treatment and/or prophylaxis of a disease selected from the group consisting of urge urinary incontinence, overactive bladder, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, stroke, incontinence and inflammatory disorders.

(10) Use of compounds of any one of claims 1 to 5 for the production of a medicine for treatment and/or prophylaxis of a disease selected from the group consisting of urge urinary incontinence, overactive bladder, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, stroke, incontinence and inflammatory disorders.

### 3. DETAILED DESCRIPTION OF INVENTION



#### TECHNICAL FIELD

The present invention relates to a piperazinecarboxamide derivative which is useful as an active ingredient of pharmaceutical preparations. The piperazinecarboxamide derivative of the present invention has vanilloid receptor (VR1) antagonistic activity, and can be used for the prophylaxis and treatment of diseases associated with VR1 activity, in particular for the treatment of urge urinary incontinence, overactive bladder, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, stroke, incontinence and/or inflammatory disorders.

#### BACKGROUND ART

Vanilloid compounds are characterized by the presence of vanillyl group or a functionally equivalent group. Examples of several vanilloid compounds or vanilloid receptor modulators are vanillin (4-hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde), guaiacol (2-methoxy-phenol), zingerone (4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone), eugenol(2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol), and capsaicin (8-methy-N-vanillyl-6-noneneamide).

Among others, capsaicin, the main pungent ingredient in "hot" chili peppers, is a specific neurotoxin that desensitizes C-fiber afferent neurons. Capsaicin interacts with vanilloid receptors (VR1), which are predominantly expressed in cell bodies of dorsal root ganglia (DRG) or nerve endings of afferent sensory fibers including C-fiber nerve endings

[Tominaga M, Caterina MJ, Malmborg AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann BE, Basbaum AI, Julius D: The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron*. 21: 531-543, 1998]. The VR1 receptor was recently cloned [Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D: *Nature* 389: 816-824, (1997)] and identified as a nonselective cation channel with six transmembrane domains that is structurally related to the TRP (transient receptor potential) channel family. Binding of capsaicin to VR1 allows sodium, calcium and possibly potassium ions to flow down their concentration gradients, causing initial depolarization and release of neurotransmitters from the nerve terminals. VR1 can therefore be viewed as a molecular integrator of chemical and physical stimuli that elicit neuronal signals in a pathological conditions or diseases.

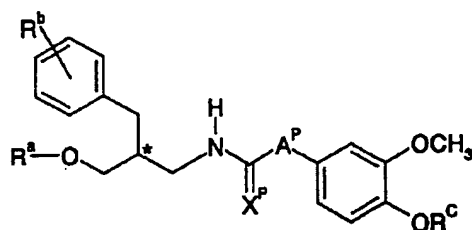
There are abundant of direct or indirect evidence that shows the relation between VR1 activity and diseases such as pain, ischaemia, and inflammatory (e.g., WO 99/00115 and 00/50387). Further, it has been demonstrated that VR1 transduce reflex signals that are involved in the overactive bladder of patients who have damaged or abnormal spinal reflex pathways [De Groat WC: A neurologic basis for the overactive bladder. *Urology* 50 (6A Suppl): 36-52, 1997]. Desensitisation of the afferent nerves by depleting neurotransmitters using VR1 agonists such as capsaicin has been shown to give promising results in the treatment of bladder dysfunction associated with spinal cord injury and multiple sclerosis [(Maggi CA: Therapeutic potential of capsaicin-like molecules - Studies in animals and humans. *Life Sciences* 51: 1777-1781, 1992) and (DeRidder

D; Chandiramani V; Dasgupta P; VanPoppel H; Baert L; Fowler CJ: Intravesical capsaicin as a treatment for refractory detrusor hyperreflexia: A dual center study with long-term followup. J. Urol. 158: 2087-2092, 1997)].

It is anticipated that antagonism of the VR1 receptor would lead to the blockage of neurotransmitter release, resulting in prophylaxis and treatment of the condition and diseases associated with VR1 activity.

It is therefore expected that antagonists of the VR1 receptor can be used for prophylaxis and treatment of the condition and diseases including chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, stroke, incontinence, inflammatory disorders, urge urinary incontinence (UUI), and/or overactive bladder.

WO 2000/50387 discloses the compounds having a vanilloid agonist activity represented by the general formula:



wherein;

$X^p$  is an oxygen or sulfur atom;

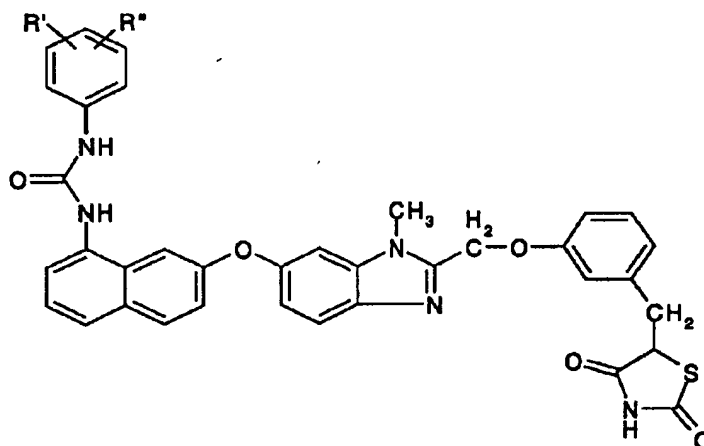
$A^p$  is  $-NHCH_2-$  or  $-CH_2-$ ;

$R^a$  is a substituted or unsubstituted  $C_{1-4}$  alkyl group, or  $R^{a1}CO-$ ;

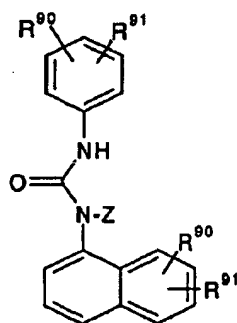
wherein  $R^{a1}$  is an alkyl group having 1 to 18 carbon atoms,

an alkenyl group having 2 to 18 carbon atoms, or substituted or unsubstituted aryl group having 6 to 10 carbon atoms;  
 $R^b$  is a hydrogen atom, an alkyl group having 1 to 6 carbon atoms, an alkoxy group having 1 to 6 carbon atoms, a haloalkyl group having 1 to 6 carbon atoms or a halogen atom;  
 $R^c$  is a hydrogen atom, an alkyl group having 1 to 4 carbon atom, an aminoalkyl, a diacid monoester or  $\alpha$ -alkyl acid; and  
the asteric mark \* indicates a chiral carbon atom, and their pharmaceutically acceptable salts.

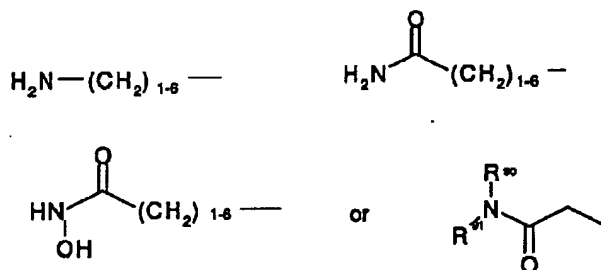
WO 2000/61581 discloses amine derivatives represented by the general formula:



wherein ( $R'$ ,  $R''$ ) represent (F, F), ( $CF_3$ , H), or (iPr, iPr)  
as useful agents for diabetes, hyperlipemia, arteriosclerosis and cancer.  
WO 2000/75106 discloses the compounds represented by the general formula:



wherein Z represents



in which  $\text{R}^{\text{90}}$  is hydrogen,  $\text{C}_{1-12}$  alkyl,  $\text{C}_{3-6}$  cycloalkyl, or the like, and  $\text{R}^{\text{91}}$  is amino- $\text{C}_{1-6}$  alkyl, aminocarbonyl- $\text{C}_{1-6}$  alkyl, or hydroxyaminocarbonyl  $\text{C}_{1-6}$  alkyl; and

$\text{R}^{\text{90}}$  and  $\text{R}^{\text{91}}$  are independently selected from the group consisting of H,  $\text{C}_{1-6}$  alkyl,  $\text{C}_{1-6}$  alkylthio,  $\text{C}_{1-6}$  alkoxy, fluoro, chloro, bromo, iodo, and nitro;

as useful agents for treating MMP-mediated diseases in mammals.

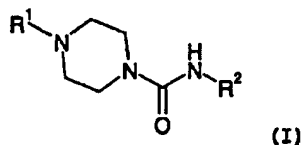
However, none of these reference discloses simple piperazinecarboxamide derivatives having pharmaceutical activity.

The development of a compound having effective VRI antagonistic activity and can be used for the prophylaxis and treatment of diseases

associated with VRL activity, in particular for the treatment of urge urinary incontinence and/or overactive bladder has been desired.

#### SUMMARY OF THE INVENTION

This invention is to provide a piperazinecarboxamide derivative of the formula (I), their tautomeric and stereoisomeric form, and salts thereof:



wherein

-R<sup>1</sup> represents phenyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, pyridyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, pyrimidyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, quinolyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>, or naphthyl optionally substituted by R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup>,

in which R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> and R<sup>13</sup> independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy, hydroxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylcarbamoyl, carbamoyl, carboxyl, amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylamino, di(straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl)amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy-carbonyl, phenyl, benzyl, phenoxy, halogen substituted phenoxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylthio, straight-chain

or branched C<sub>1-6</sub> alkanoyl, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoylamino, hydroxy substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy,

R<sup>2</sup> represents phenyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, pyridyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, pyrimidyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, quinolyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>, or naphthyl optionally substituted by R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup>,

in which R<sup>21</sup>, R<sup>22</sup> and R<sup>23</sup> independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy, hydroxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylcarbamoyl, carbamoyl, carboxyl, amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylamino, di(straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl)amino, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxycarbonyl, phenyl, benzyl, phenoxy, halogen substituted phenoxy, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkylthio, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoyl, straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkanoylamino, hydroxy substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched C<sub>1-6</sub> alkoxy.

The piperazinecarboxamide derivative of formula (I), their tautomeric and stereoisomeric form, and salts thereof surprisingly show excellent VRI antagonistic activity. They are, therefore suitable especially for the prophylaxis and treatment of diseases associated with

VRI activity, in particular for the treatment of urge urinary incontinence and/or overactive bladder.

Preferably, the piperazinecarboxamide derivative of formula (I) are those wherein;

$-R^1$  represents phenyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyridyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyrimidyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , quinolyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , or naphthyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ ,

in which  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy; and

$R^2$  represents phenyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , pyridyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , pyrimidyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , quinolyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ , or naphthyl optionally substituted by  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$ ,

in which  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  and  $R^{23}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri- halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy.

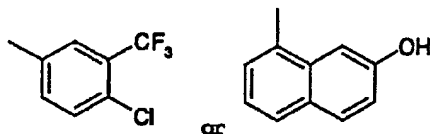
In another embodiment, the piperazinecarboxamide derivative of formula (I) can be those wherein  $-R^1$  represents phenyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyridyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , pyrimidyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , quinolyl optionally substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ , or naphthyl optionally



substituted by  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  and  $R^{13}$ ,

in which  $R^{11}$  and  $R^{12}$  independently represent hydrogen, halogen, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, mono-, di-, or tri-halogen substituted straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkyl, nitro, cyano, straight-chain or branched  $C_{1-6}$  alkoxy, or hydroxy and  $R^{13}$  represents hydrogen.

In another embodiment, the piperazinecarboxamide derivative of formula (I) can be those wherein  $R^2$  represents



More preferably, said piperazinecarboxamide derivative of the formula (I) is selected from the group consisting of:

4-(2-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine carboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(2-fluorophenyl)-1-piperazine carboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-phenyl-1-piperazinecarboxamide;

N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(3,5-dichloro-4-pyridinyl)-1-piperazinecarboxamide;

N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide;

4-(2-chlorophenyl)-N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-1-piperazinecarboxamide;

and

4-(3,4-dimethylphenyl)-N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-1-piperazinecarboxamide.  
e.

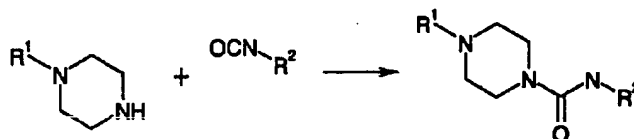
Preferably, the medicament of the present invention further comprise one or more pharmaceutically acceptable carrier and/or excipients.

The piperazinecarboxamide derivatives of the formula (I), their tautomeric and stereoisomeric form, and salts thereof are effective for treating or preventing a disease selected from the group consisting of urge urinary incontinence, overactive bladder, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration and/or stroke, since the diseases also relate to VR1 activity.

#### EMBODIMENT OF THE INVENTION

The compound of the formula (I) of the present invention can be, but not limited to be, prepared by the methods [A] or [B] below. In some embodiments, one or more of the substituents, such as amino group, carboxyl group, and hydroxyl group of the compounds used as starting materials or intermediates are advantageously protected by a protecting group known to those skilled in the art. Examples of the protecting groups are described in "Protective Groups in Organic Synthesis (2<sup>nd</sup> Edition)" by Greene and Wuts.

[Method A]

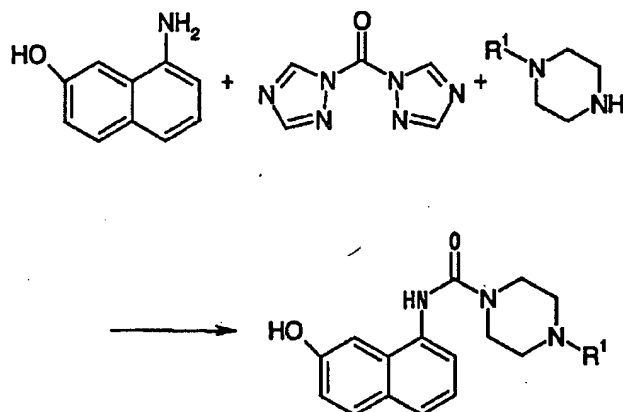


The compound wherein R<sup>1</sup> and R<sup>2</sup> are the same as defined above, can be prepared by the reaction of a substituted piperazine and isocyanate. The reaction may be carried out in a solvent including, for instance, halogenated hydrocarbons such as methylenechloride and chloroform, ethers, such as dioxane, and tetrahydrofuran; aromatic hydrocarbons such as benzene, toluene and xylene; nitriles such as acetonitrile; amides such as dimethylformamide (DMF) and dimethylacetamide; sulfoxides such as dimethyl sulfoxide, and others.

The reaction can be carried out in the presence of organic base such as triethylamine. The reaction temperature can be optionally set depending on the compounds to be reacted. The reaction temperature is usually, but not limited to, about room temperature to 100 °C. The reaction may be conducted for, usually, 30 minutes to 48 hours and preferably 1 to 24 hours.

The substituted piperazine and isocyanate are commercially available or can be prepared by the use of known techniques.

[Method B]



The compound wherein  $R^1$  is the same as defined above, can be prepared by (1) reacting a naphthylamine and 1,1'-carbonyldi(1,2,4-triazole) (CDT), and (2) adding a substituted aryl piperazine to the reaction mixture. The reaction (1) may be carried out in a solvent including, for instance, ethers, such as dioxane, and tetrahydrofuran; aromatic hydrocarbons such as benzene, toluene and xylene; nitriles such as acetonitrile; amides such as dimethylformamide (DMF) and dimethylacetamide; sulfoxides such as dimethyl sulfoxide, and others.

The reaction temperature can be optionally set depending on the compounds to be reacted. The reaction temperature is usually, but not limited to, about 20 °C to 50 °C. The reaction may be conducted for, usually, 30 minutes to 10 hours and preferably 1 to 24 hours.

When the compound shown by the formula (I) or a salt thereof has tautomeric isomers and/or stereoisomers (e.g., geometrical isomers and conformational isomers), each of their separated isomer and mixtures are

also included in the scope of the present invention.

When the compound shown by the formula (I) or a salt thereof has an asymmetric carbon in the structure, their optically active compounds and racemic mixtures are also included in the scope of the present invention.

Typical salts of the compound shown by the formula (I) include salts prepared by reaction of the compounds of the present invention with a mineral or organic acid, or an organic or inorganic base. Such salts are known as acid addition and base addition salts, respectively.

Acids to form acid addition salts include inorganic acids such as, without limitation, sulfuric acid, phosphoric acid, hydrochloric acid, hydrobromic acid, hydroiodic acid and the like, and organic acids, such as, without limitation, p-toluenesulfonic acid, methanesulfonic acid, oxalic acid, p-bromophenylsulfonic acid, carbonic acid, succinic acid, citric acid, benzoic acid, acetic acid, and the like.

Base addition salts include those derived from inorganic bases, such as, without limitation, ammonium hydroxide, alkaline metal hydroxide, alkaline earth metal hydroxides, carbonates, bicarbonates, and the like, and organic bases, such as, without limitation, ethanolamine, triethylamine, tris(hydroxymethyl)aminomethane, and the like. Examples of inorganic bases include sodium hydroxide, potassium hydroxide, potassium carbonate, sodium carbonate, sodium bicarbonate, potassium bicarbonate, calcium hydroxide, calcium carbonate, and the like.

The compound of the present invention or a salt thereof, depending on its substituents, may be modified to form lower alkylesters or known

other esters; and/or hydrates or other solvates. Those esters, hydrates, and solvates are included in the scope of the present invention.

The compound of the present invention may be administered in oral forms, such as, without limitation normal and enteric coated tablets, capsules, pills, powders, granules, elixirs, tinctures, solution, suspensions, syrups, solid and liquid aerosols and emulsions. They may also be administered in parenteral forms, such as, without limitation, intravenous, intraperitoneal, subcutaneous, intramuscular, and the like forms, well-known to those of ordinary skill in the pharmaceutical arts. The compounds of the present invention can be administered in intranasal form via topical use of suitable intranasal vehicles, or via transdermal routes, using transdermal delivery systems well-known to those of ordinary skilled in the art.

The dosage regimen with the use of the compounds of the present invention is selected by one of ordinary skill in the arts, in view of a variety of factors, including, without limitation, age, weight, sex, and medical condition of the recipient, the severity of the condition to be treated, the route of administration, the level of metabolic and excretory function of the recipient, the dosage form employed, the particular compound and salt thereof employed.

The compounds of the present invention are preferably formulated prior to administration together with one or more pharmaceutically-acceptable excipients. Excipients are inert substances such as, without limitation carriers, diluents, flavoring agents, sweeteners, lubricants, solubilizers, suspending agents, binders, tablet

disintegrating agents and encapsulating material.

Yet another embodiment of the present invention is pharmaceutical formulation comprising a compound of the invention and one or more pharmaceutically-acceptable excipients that are compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof. Pharmaceutical formulations of the invention are prepared by combining a therapeutically effective amount of the compounds of the invention together with one or more pharmaceutically-acceptable excipients therefore. In making the compositions of the present invention, the active ingredient may be mixed with a diluent, or enclosed within a carrier, which may be in the form of a capsule, sachet, paper, or other container. The carrier may serve as a diluent, which may be solid, semi-solid, or liquid material which acts as a vehicle, or can be in the form of tablets, pills, powders, lozenges, elixirs, suspensions, emulsions, solutions, syrups, aerosols, ointments, containing, for example, up to 10% by weight of the active compound, soft and hard gelatin capsules, suppositories, sterile injectable solutions and sterile packaged powders.

For oral administration, the active ingredient may be combined with an oral, and non-toxic, pharmaceutically-acceptable carrier, such as, without limitation, lactose, starch, sucrose, glucose, sodium carbonate, mannitol, sorbitol, calcium carbonate, calcium phosphate, calcium sulfate, methyl cellulose, and the like; together with, optionally, disintegrating agents, such as, without limitation, maize, starch, methyl cellulose, agar, bentonite, xanthan gum, alginic acid, and the like; and optionally, binding agents, for example, without limitation, gelatin, natural sugars,

beta-lactose, corn sweeteners, natural and synthetic gums, acacia, tragacanth, sodium alginate, carboxymethylcellulose, polyethylene glycol, waxes, and the like; and, optionally, lubricating agents, for example, without limitation, magnesium stearate, sodium stearate, stearic acid, sodium oleate, sodium benzoate, sodium acetate, sodium chloride, talc, and the like.

In powder forms, the carrier may be a finely divided solid which is in admixture with the finely divided active ingredient. The active ingredient may be mixed with a carrier having binding properties in suitable proportions and compacted in the shape and size desired to produce tablets. The powders and tablets preferably contain from about 1 to about 99 weight percent of the active ingredient which is the novel composition of the present invention. Suitable solid carriers are magnesium carboxymethyl cellulose, low melting waxes, and cocoa butter.

Sterile liquid formulations include suspensions, emulsions, syrups and elixirs. The active ingredient can be dissolved or suspended in a pharmaceutically acceptable carriers, such as sterile water, sterile organic solvent, or a mixture of both sterile water and sterile organic solvent.

The active ingredient can also be dissolved in a suitable organic solvent, for example, aqueous propylene glycol. Other compositions can be made by dispersing the finely divided active ingredient in aqueous starch or sodium carboxymethyl cellulose solution or in a suitable oil.

The formulation may be in unit dosage form, which is a physically discrete unit containing a unit dose, suitable for administration in human



or other mammals. A unit dosage form can be a capsule or tablets, or a number of capsules or tablets. A "unit dose" is a predetermined quantity of the active compound of the present invention, calculated to produce the desired therapeutic effect, in association with one or more excipients. The quantity of active ingredient in a unit dose may be varied or adjusted from about 0.1 to about 1000 milligrams or more according to the particular treatment involved.

Typical oral dosages of the present invention, when used for the indicated effects, will range from about 0.01mg /kg/day to about 100 mg/kg/day, preferably from 0.1 mg/kg/day to 30 mg/kg/day, and most preferably from about 0.5 mg/kg/day to about 10 mg/kg/day. In the case of parenteral administration, it has generally proven advantageous to administer quantities of about 0.001 to 100mg /kg/day, preferably from 0.01 mg/kg/day to 1 mg/kg/day. The compounds of the present invention may be administered in a single daily dose, or the total daily dose may be administered in divided doses, two, three, or more times per day. Where delivery is via transdermal forms, of course, administration is continuous.

### EXAMPLES

The present invention will be described as a form of examples, but they should by no means be construed as defining the metes and bounds of the present invention.

In the examples below, all quantitative data, if not stated otherwise, relate to percentages by weight.

Mass spectra were obtained using electrospray (ES) ionization techniques (micromass Platform LC). Melting points are uncorrected. Liquid Chromatography - Mass spectroscopy (LC-MS) data were recorded on a Micromass Platform LC with Shimadzu Phenomenex ODS column (4.6 mm  $\times$  30 mm) flushing a mixture of acetonitrile-water (9:1 to 1:9) at 1 ml/min of the flow rate. TLC was performed on a precoated silica gel plate (Merck silica gel 60 F-254). Silica gel (WAKO-gel C-200 (75-150  $\mu$ m)) was used for all column chromatography separations. All chemicals were reagent grade and were purchased from Sigma-Aldrich, Wako pure chemical industries, Ltd., Tokyo kasei kogyo co. Ltd., Arch corporation.

All starting materials are commercially available or can be prepared using methods cited in the literature.

The effect of the present compounds were examined by the following assays and pharmacological tests.

[Measurement of capsaicin-induced  $\text{Ca}^{2+}$  influx in the human VR1-transfected CHO cell line] (Assay 1)

#### (1) Establishment of the human VR1-CHOluc9aeq cell line

Human vanilloid receptor (hVR1) cDNA was cloned from libraries of

axotomized dorsal root ganglia (WO2000/29577). The cloned hVR1 cDNA was constructed with pcDNA3 vector and transfected into a CHOLuc9aeq cell line. The cell line contains aequorin and CRE-luciferase reporter genes as read-out signals. The transfectants were cloned by limiting dilution in selection medium (DMEM/F12 medium (Gibco BRL) supplemented with 10% FCS, 1.4 mM Sodium pyruvate, 20 mM HEPES, 0.15% Sodium bicarbonate, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 2 mM glutamine, non-essential amino acids and 2 mg/ml G418).  $\text{Ca}^{2+}$  influx was examined in the capsaicin-stimulated clones. A high responder clone was selected and used for further experiments in the project. The human VR1-CHOLuc9aeq cells were maintained in the selection medium and passaged every 3-4 days at  $1-2.5 \times 10^5$  cells/Flask (75  $\text{mm}^2$ ).

(2) Measurement of  $\text{Ca}^{2+}$  influx using FDSS-3000

Human VR1-CHOLuc9aeq cells were suspended in a culture medium which is the same as the selection medium except for G418 and seeded at a density of 1,000 cells per well into 384-well plates (black walled clear-base / Nalge Nunc International). Following the culture for 48 hrs the medium was changed to 2 µM Fluo-3 AM (Molecular Probes) and 0.02% Pluronic F-127 in assay buffer (Hank's balanced salt solution (HBSS), 17 mM HEPES (pH7.4), 1 mM Probenecid, 0.1% BSA) and the cells were incubated for 60 min at 25°C. After washing twice with assay buffer the cells were incubated with a test compound or vehicle for 20 min at 25°C. Mobilization of cytoplasmic  $\text{Ca}^{2+}$  was measured by FDSS-3000 ( $\lambda_{\text{ex}}$ =488nm,  $\lambda_{\text{em}}$ =540nm / Hamamatsu Photonics) for 60 sec after the stimulation with 10 nM capsaicin. Integral R was calculated and compared with controls.

[Measurement of the capsaicin-induced  $\text{Ca}^{2+}$  influx in primary cultured rat dorsal root ganglia neurons] (Assay 2)

(1) Preparation of rat dorsal root ganglia neurons

New born Wistar rats (5-11 days) were sacrificed and dorsal root ganglia (DRG) was removed. DRG was incubated with 0.1% trypsin (Gibco BRL) in PBS(-) (Gibco BRL) for 30 min at 37°C, then a half volume of fetal calf serum (FCS) was added and the cells were spun down. The DRG neuron cells were resuspended in Ham F12/5% FCS/5% horse serum (Gibco BRL) and dispersed by repeated pipetting and passing through 70  $\mu\text{m}$  mesh (Falcon). The culture plate was incubated for 3 hours at 37°C to remove contaminating Schwann cells. Non-adherent cells were recovered and further cultured in laminin-coated 384 well plates (Nunc) at  $1 \times 10^4$  cells/50  $\mu\text{l}$ /well for 2 days in the presence of 50 ng/ml recombinant rat NGF (Sigma) and 50  $\mu\text{M}$  5-fluorodeoxyuridine (Sigma).

(2)  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization assay

DRG neuron cells were washed twice with HBSS supplemented with 17 mM HEPES (pH 7.4) and 0.1% BSA. After incubating with 2  $\mu\text{M}$  fluo-3AM (Molecular Probe), 0.02% PF127 (Gibco BRL) and 1 mM probenecid (Sigma) for 40 min at 37°C, cells were washed 3 times. The cells were incubated with VR1 antagonists or vehicle (dimethylsulphoxide) and then with 1  $\mu\text{M}$  capsaicin in FDSS-6000 ( $\lambda_{\text{ex}}=480\text{nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=520\text{nm}$  / Hamamatsu Photonics). The fluorescence changes at 480nm were monitored for 2.5 min. Integral R was calculated and compared with controls.

[Organ bath assay to measure the capsaicin-induced bladder contraction]

(Assay 3)

Male Wistar rats (10 week old) were anesthetized with ether and sacrificed by dislocating the necks. The whole urinary bladder was excised and placed in oxygenated Modified Krebs-Henseleit solution (pH 7.4) of the following composition (112mM NaCl, 5.9mM KCl, 1.2mM MgCl<sub>2</sub>, 1.2mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2mM CaCl<sub>2</sub>, 2.5mM NaHCO<sub>3</sub>, 12mM glucose). Contractile responses of the urinary bladder were studied as described previously [Maggi CA et al: Br.J.Pharmacol. 108: 801-805, 1993]. Isometric tension was recorded under a load of 1 g using longitudinal strips of rat detrusor muscle. Bladder strips were equilibrated for 60 min before each stimulation. Contractile response to 80 mM KCl was determined at 15 min intervals until reproducible responses were obtained. The response to KCl was used as an internal standard to evaluate the maximal response to capsaicin. The effects of the compounds were investigated by incubating the strips with compounds for 30 min prior to the stimulation with 1  $\mu$ M capsaicin (vehicle: 80% saline, 10% EtOH, and 10% Tween 80). One of the preparations made from the same animal was served as a control while the others were used for evaluating compounds. Ratio of each capsaicin-induced contraction to the internal standard (i.e. KCl-induced contraction) was calculated and the effects of the test compounds on the capsaicin-induced contraction were evaluated.

[Measurement of Ca<sup>2+</sup> influx in the human P2X<sub>1</sub>-transfected CHO cell line]

(1) Preparation of the human P2X<sub>1</sub>-transfected CHO-luc9aeq cell line

Human P2X<sub>1</sub>-transfected CHO-luc9aeq cell line was established and

maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM/F12) supplemented with 7.5% FCS, 20 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 1.4 mM sodium pyruvate, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 2 mM glutamine (Gibco BRL) and 0.5 Units/ml apyrase (grade I, Sigma). The suspended cells were seeded in each well of 384-well optical bottom black plates (Nalge Nunc International) at  $3 \times 10^3$  / 50 µl / well. The cells were cultured for following 48 hrs to adhere to the plates.

(2) Measurement of the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels

P2X<sub>1</sub> receptor agonist-mediated increases in cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  levels were measured using a fluorescent  $\text{Ca}^{2+}$  chelating dye, Fluo-3 AM (Molecular Probes). The plate-attached cells were washed twice with washing buffer (HBSS, 17 mM HEPES-KOH (pH 7.4), 0.1% BSA and 0.5 units/ml apyrase), and incubated in 40 µl of loading buffer (1 µM Fluo-3 AM, 1 mM probenecid, 1 µM cyclosporin A, 0.01% pluronic (Molecular Probes) in washing buffer) for 1 hour in a dark place. The plates were washed twice with 40 µl washing buffer and 35 µl of washing buffer were added in each well with 5 µl of test compounds or 2',3'-O-(2,4,6-trinitrophenyl) adenosine 5'-triphosphate (Molecular Probes) as a reference. After further incubation for 10 minutes in dark 200 nM  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene ATP agonist was added to initiate the  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization. Fluorescence intensity was measured by FDSS-6000 ( $\lambda_{\text{ex}}$ =410nm,  $\lambda_{\text{em}}$ =510nm / Hamamatsu Photonics) at 250 msec intervals. Integral ratios were calculated from the data and compared with that of a control.

[Measurement of capsaicin-induced bladder contraction in anesthetized

rats] (Assay 4)

(1) Animals

Female Sprague-Dawley rats (200-250 g / Charles River Japan) were used.

(2) Catheter implantation

Rats were anesthetized by intraperitoneal administration of urethane (Sigma) at 1.2 g/kg. The abdomen was opened through a midline incision, and a polyethylene catheter (BECTON DICKINSON, PE50) was implanted into the bladder through the dome. In parallel, the inguinal region was incised, and a polyethylene catheter (Hibiki, size 5) filled with 2 IU / ml of heparin (Novo Heparin, Aventis Pharma) in saline (Otsuka) was inserted into a common iliac artery.

(3) Cystometric investigation

The bladder catheter was connected via T-tube to a pressure transducer (Viggo-Spectramed Pte Ltd, DT-XRAD) and a microinjection pump (TERUMO). Saline was infused at room temperature into the bladder at a rate of 2.4 ml/hr. Intravesical pressure was recorded continuously on a chart pen recorder (Yokogawa). At least three reproducible micturition cycles, corresponding to a 20-minute period, were recorded before a test compound administration and used as baseline values.

(4) Administration of test compounds and stimulation of bladder with capsaicin

The saline infusion was stopped before administering compounds. A testing compound dissolved in the mixture of ethanol, Tween 80 (ICN Biomedicals Inc.) and saline (1 : 1 : 8, v/v/v) was administered

intraarterially at 10 mg/kg. 2min after the administration of the compound 10 µg of capsaicin (Nacalai Tesque) dissolved in ethanol was administered intraarterially.

(5) Analysis of cystometry parameters

Relative increases in the capsaicin-induced intravesical pressure were analyzed from the cystometry data. The capsaicin-induced bladder pressures were compared with the maximum bladder pressure during micturition without the capsaicin stimulation. The testing compounds-mediated inhibition of the increased bladder pressures was evaluated using Student's t-test. A probability level less than 5% was accepted as significant difference.

Results of IC<sub>50</sub> of capsaicin-induced Ca<sup>2+</sup> influx in the human VR1-transfected CHO cell line are shown in Examples and tables of the Examples below. The data corresponds to the compounds as yielded by solid phase synthesis and thus to levels of purity of about 40 to 90%. For practical reasons, the compounds are grouped in four classes of activity as follows:

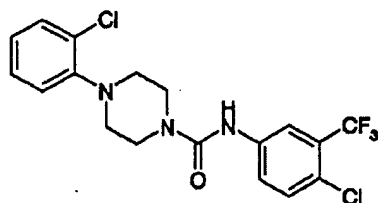
$$IC_{50} = A \leq 0.1 \mu M < B \leq 0.5 \mu M < C \leq 1 \mu M < D$$

The compounds of the present invention also show excellent selectivity, and strong activity in other assays (2)-(4) described above.



**Example 1-1**

**4-(2-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine  
carboxamide**



This example was performed according to the general method A.

To a stirred solution of 4-chloro-3-trifluoromethylphenyl isocyanate (80.0 mg, 0.36 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL) was added a solution of 1-(2-chlorophenyl) piperazine (79.0 mg, 0.40 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL) at room temperature. The reaction mixture was stirred for 2 hrs at the same temperature. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was washed with diethylether to give 4-(2-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine carboxamide (112.0 mg, 67% yield)

mp 175-176 °C;

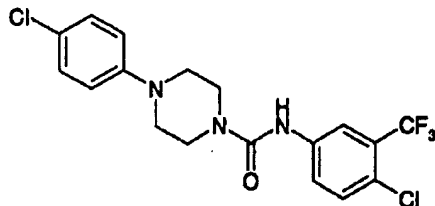
Molecular weight 418.25

MS (M+H):418

Activity grade:A

**Example 1-2**

**4-(4-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine  
carboxamide**



This example was performed according to the general method A. To a stirred solution of 4-chlorophenylpiperazine hydrochloride (94.0 mg, 0.40 mmol) and triethylamine (0.062 ml, 0.44 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.0 mL) was added a solution of 4-chloro-3-trifluoromethylphenyl isocyanate (80.0 mg, 0.36 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred for 2 hrs at the same temperature. Saturated NaHCO<sub>3</sub> solution was added and the reaction mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and then concentrated under reduced pressure. The residue was washed with diethylether to give 4-(4-chlorophenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazine carboxamide (130.0 mg, 78% yield)

mp 119 °C;

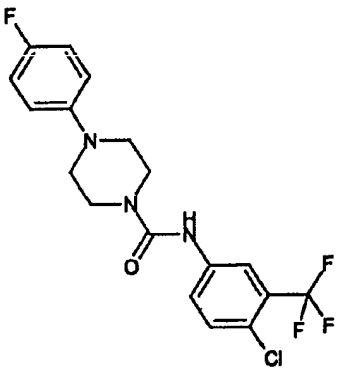
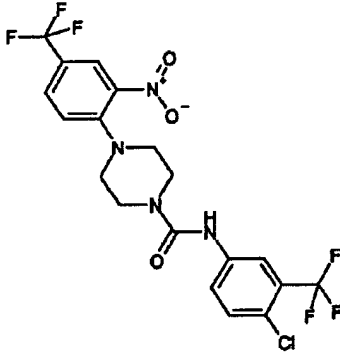
Molecular weight 418.24

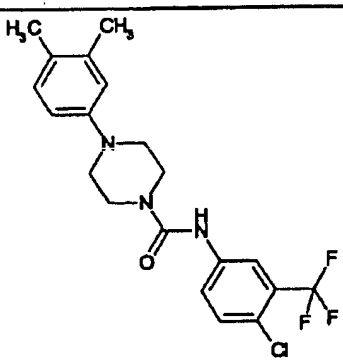
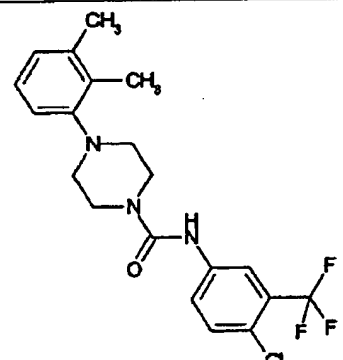
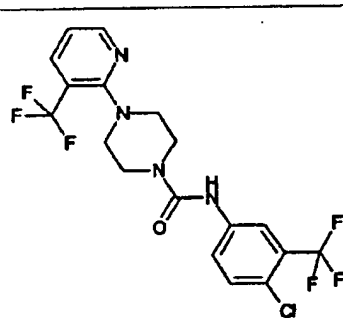
MS (M+H):418

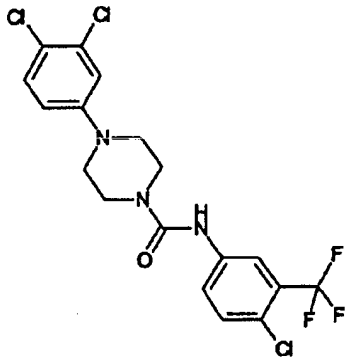
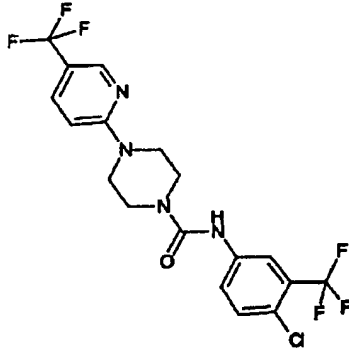
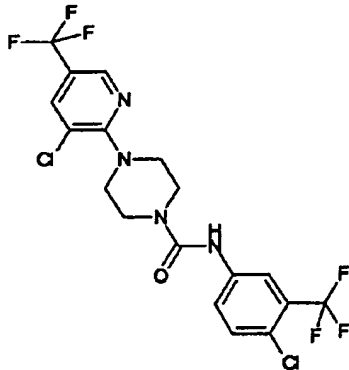
Activity grade:B

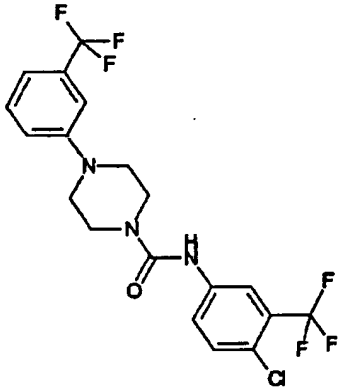
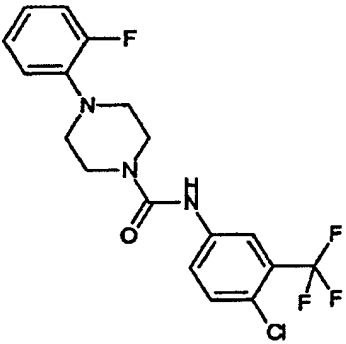
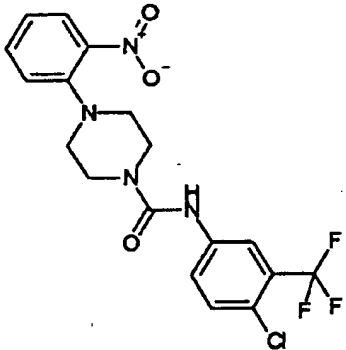
According to procedures similar to the examples 1-1 and 1-2 above, the following compounds were synthesized and tested.

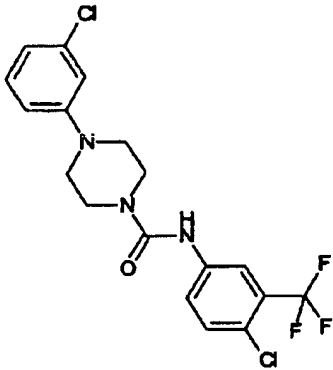
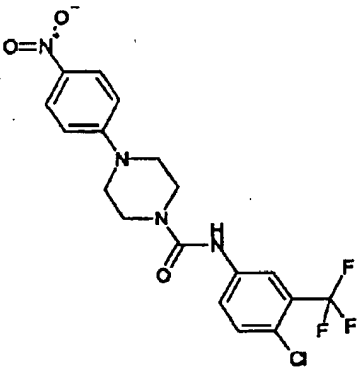
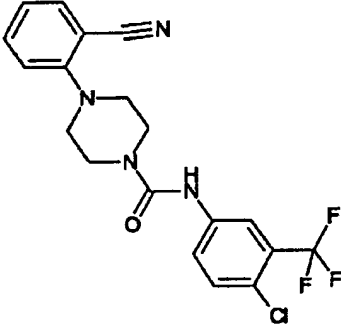
Table 1

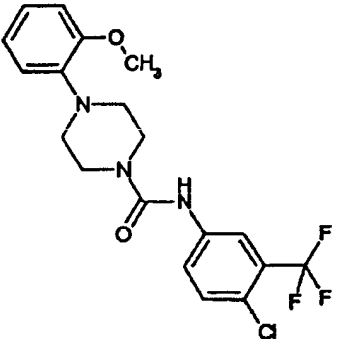
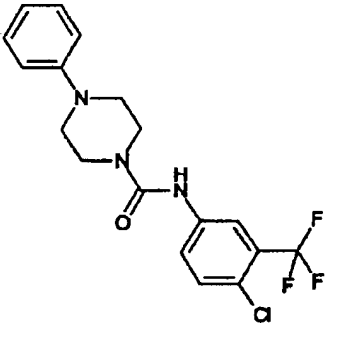
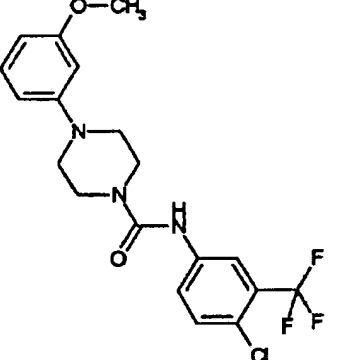
Ex. No.	MOLSTRUCTURE	MW	M+1	mp	hVR1 class
1-3	 <chem>Fc1ccc(cc1)N2CCN(CC2)C(=O)Nc3cc(Cl)c(C(F)(F)F)cc3</chem>	401.79432		115	B
1-4	 <chem>Fc1cc(C(F)(F)F)c(cc1[N+](=O)[O-])N2CCN(CC2)C(=O)Nc3cc(Cl)c(C(F)(F)F)cc3</chem>	496.7998		188	B

1-5	 <chem>Cc1cc(C)ccc1N1CCCN1C(=O)Nc2ccc(Cl)c(C(F)(F)F)c2</chem>	411.85807	140-142	B
1-6	 <chem>Cc1cc(C)ccc1N1CCCN1C(=O)Nc2ccc(Cl)c(C(F)(F)F)c2</chem>	411.85807	162-163	B
1-7	 <chem>Fc1ccc(NC(=O)N2CCCN2c3ccnc3C(F)(F)F)c(Cl)c1F</chem>	452.78985	163-165	A

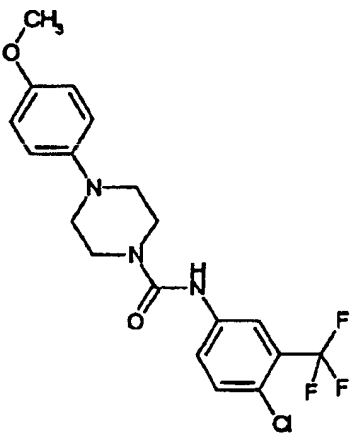
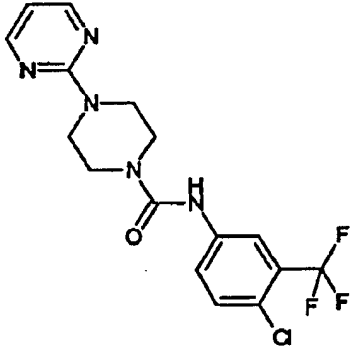
1-8		452.69395		188-189	B
1-9		452.78985		153-155	C
1-10		487.23488		123-125	B

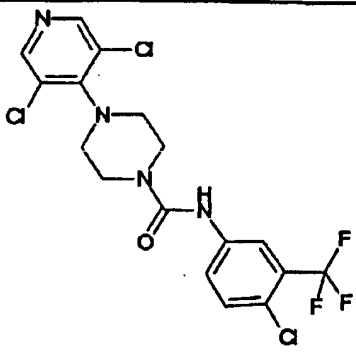
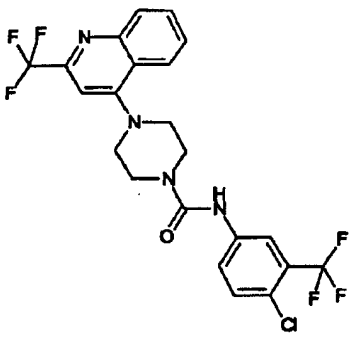
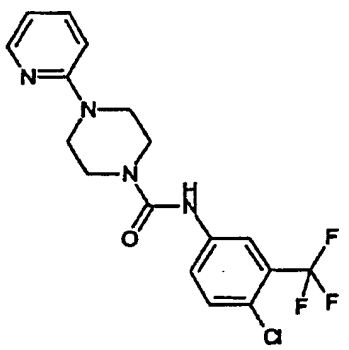
1-11	 <chem>FC1(F)FCC1C(=O)N2CCN(CC2)C(=O)Nc3ccc(cc3C(F)(F)F)Cl</chem>	451.80227		117-119	B
1-12	 <chem>Fc1ccccc1C(=O)N2CCN(CC2)C(=O)Nc3ccc(cc3C(F)(F)F)Cl</chem>	401.79432		128-130	A
1-13	 <chem>[O-][N+](=O)c1ccccc1C(=O)N2CCN(CC2)C(=O)Nc3ccc(cc3C(F)(F)F)Cl</chem>	428.80142		178-180	B

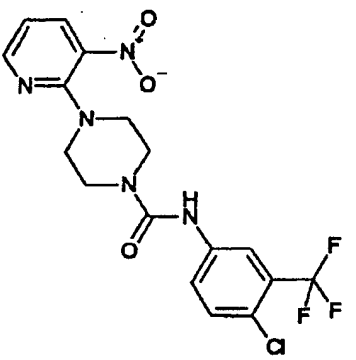
1-14		418.24892		133-135	B
1-15		428.80142		208-210	C
1-16		408.81377		164-168	B

1-17		413.83038		178-181	B
1-18		383.80389		136-137	A
1-19		413.83038		106-108	B



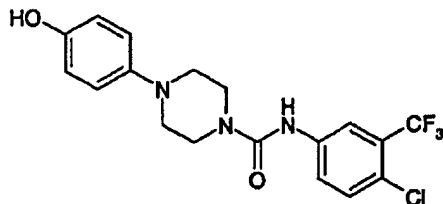
1-20		413.83038		154-155	C
1-21		385.77905		157-159	C

1-22		453.68153		253-255	A
1-23		502.85039		210-212	B
1-24		384.79147		139-141	B

1-25		429.789		169-170	B
------	---	---------	--	---------	---

**Example 2-1**

**4-(4-hydroxyphenyl)-N-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazin  
ecarboxamide**



This example was performed according to said method A and further modification of the substituent of phenyl moiety attached to the piperazine.

To a solution of *N*-[4-chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(4-methoxyphenyl)-1-piperazinecarboxamide (100.0 mg, 0.24 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  was added boron tribromide (1.0M solution in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 0.72 ml, 0.72 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 5 h. The reaction mixture was neutralized with a saturated  $\text{NaHCO}_3$  solution and then extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The organic layer was dried over  $\text{MgSO}_4$ , and then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by preparative thin layer chromatography ( $\text{CHCl}_3$  :  $\text{MeOH}$  = 10:1) to give the target compound (29 mg, 30%).

mp 231-233 °C;

Molecular weight 399.80

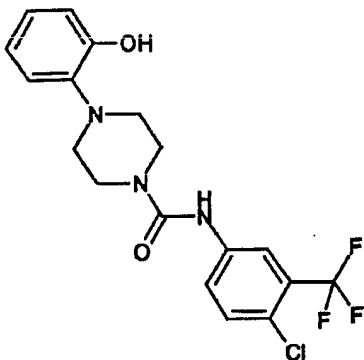
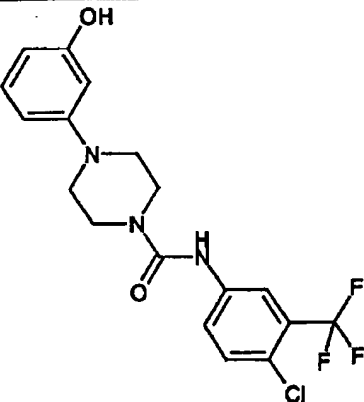
MS (M+H): 400

Activity grade:C

According to procedures similar to the example 2-1 above, the

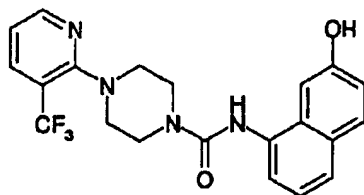
following compounds were synthesized and tested.

Table 2

EX. No.	MOLSTRUCTURE	MW	M+1	mp.	hVR1 class
2-2	 <chem>Oc1ccc(cc1)N2CCN(C2)C(=O)Nc3ccc(cc3C(F)(F)F)Cl</chem>	399.8033		191-192	B
2-3	 <chem>Oc1ccc(cc1)N2CCN(C2)C(=O)Nc3ccc(cc3C(F)(F)F)Cl</chem>	399.8033		182-184	C

**Example 3**

**N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide**



This example was performed by using said reaction B.

To a solution of 8-amino-2-naphthol (69.0 mg, 0.43 mmol) in THF (2 ml) was added 1,1'-carbonyldi(1,2,4-triazole) (71.0 mg, 0.43 mmol) and the mixture was stirred at room temperature for 2 hrs. 1-[3-(trifluoromethyl)pyrid-2-yl]piperazine (100.0 mg, 0.43 mmol) was added and the mixture was stirred at 50° C for 3 hrs. Water was added and the reaction mixture was extracted with AcOEt. The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub> and then concentrated under reduced pressure. The residue was washed with diethylether to give N-(7-hydroxy-1-naphthyl)-4-[3-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]-1-piperazinecarboxamide (125.0 mg, 69%).

mp 202-204 °C

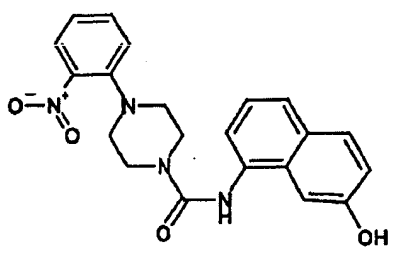
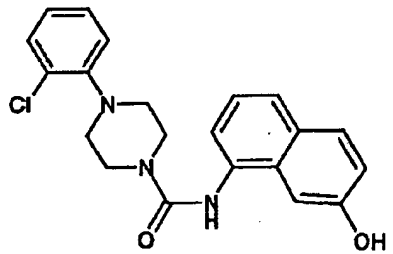
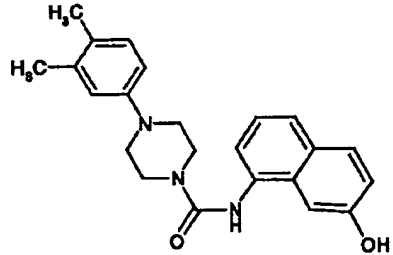
Molecular weight 416.41

MS (M+H):417

Activity grade:B

According to procedures similar to the example 3-1 above, the following compounds were synthesized and tested.

Table 3

Ex. No.	MOLSTRUCTURE	MW	M+1	mp	hVR1 class
3-2		392.418		210	B
3-3		381.8655		233	A
3-4		375.4749		260	A

## ABSTRACT

This invention relates to piperazinecarboxamide derivatives and salts thereof which is useful as an active ingredient of pharmaceutical preparations.

The piperazinecarboxamide derivatives of the present invention have an excellent activity as VR1 antagonist and useful for the prophylaxis and treatment of diseases associated with VR1 activity, in particular for the treatment of urge urinary incontinence, overactive bladder, chronic pain, neuropathic pain, postoperative pain, rheumatoid arthritic pain, neuralgia, neuropathies, algesia, nerve injury, ischaemia, neurodegeneration, stroke, incontinence and/or inflammatory disorders.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**